Untersuchungen über das Ausscheidungs- und Stoffwechselverhalten von ^{14}C-markiertem Dimethylsulfoxid (DMSO) bei Kälbern und Milchkühen

Norbert Harre

1972

Aus dem Institut für Tierphysiologie und dem Institut
für Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Vorstände: Prof. DDr. DDr. h.c. Johs. Brüggemann
Prof. Dr. Dr. Jürgen Tiews

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS AUSSCHEIDUNGS- UND STOFFWECHSELVERHALTEN VON ^{14}C-MARKIERTEM DIMETHYLSULFOXID (DMSO) BEI KÄLBERN UND MILCHKÜHEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Norbert Harre

aus

Bad Homburg v.d.H.

München 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. Boessneck

Referent: Prof. Dr. Dr. J. Tiews

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. M. Ruf

Tag der Promotion: 14. 07. 1972

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Literaturübersicht	2
Chemisch-physikalische Eigenschaften von DMSO	2
Chemisch-physikalische Eigenschaften von DMS und $DMSO_2$	3
Pharmakologische Eigenschaften von DMSO	4
Nebenwirkungen	7
Toxikologie	7
Klinische Anwendung	8
Stoffwechselverhalten	9
$DMSO_2$ in biologischem Material	9
DMS in biologischem Material	10
Beeinflussung von DMS, DMSO und $DMSO_2$ durch biologische Systeme	10
DMSO-Gehalt des Blutes nach unterschiedlicher Applikation von DMSO	13
Rückstände von DMSO an der behandelten Hautstelle	16
Verteilung von DMSO in den Geweben	17
Ausscheidung über die Niere	21
Ausscheidung über den Kot	23
Ausscheidung im Schweiß	23
Ausscheidung in den Barthaaren	24
Ausscheidung mit der Milch	24
Ausscheidung in der Ausatmungsluft	24
Zusammenfassung	26
Eigene Untersuchungen	27
Problemstellung	27
Methodik	27
Versuchsdurchführung und Ergebnisse	32
Kälberversuch I	32
Kälberversuch II	36
Kälberversuch III	42
Kälberversuch IV	48
Kälberversuch V	51

Seite

Kuhversuch I 53
Kuhversuch II 58

Diskussion 63

Zusammenfassung 7o

Summary 72

Literaturverzeichnis 74

I Einleitung

Obwohl die Substanz Dimethylsulfoxid (DMSO) bereits im Jahre 1867 von dem russischen Chemiker SAYTZEFF dargestellt werden konnte, geriet sie anschließend wieder in Vergessenheit. Als man Mitte dieses Jahrhunderts an die Erforschung der Sulfoxide ging, wurde man auf das DMSO erneut aufmerksam. Man erkannte daraufhin bald seine Verwendungsmöglichkeiten in der technischen Chemie und Medizin.

Für die chemische Industrie ist DMSO wegen seiner besonderen Lösungseigenschaften von Interesse.
Aufgrund dieser Eigenschaften fand DMSO vor allem bei der Lackherstellung und Kunstfaserverarbeitung Verwendung.

Bald entdeckte man eine ganze Reihe pharmakologischer Wirkungen. Besonders interessant ist die Fähigkeit der Sorptionsvermittlung. Sie kann bei der perkutanen Applikation von Medikamenten ausgenützt werden.

Bei der Überprüfung eines Pharmakons ist neben den Haupt- und Nebenwirkungen sowie der Toxikologie für die Tiermedizin ein weiterer Punkt von Bedeutung: das Rückstandsproblem.

Eine mögliche Gefährdung des Menschen durch Rückstände in Nahrungsmitteln tierischer Herkunft muß ausgeschlossen werden. Zur Untersuchung dieses Problems kann man u.a. drei Wege einschlagen:

1. man erforscht, inwieweit die Substanz quantitativ ausgeschieden wird, sei es verändert oder unverändert;
2. man klärt, inwieweit die Substanz zu unschädlichen Verbindungen im Organismus abgebaut wird;
3. man untersucht die Rückstandsbildung im Organismus direkt.

Häufig sind alle Punkte miteinander verknüpft.
Da hinsichtlich Ausscheidung und Stoffwechselverhalten von DMSO beim Rind bisher keine Angaben vorliegen, sind in dieser Arbeit entsprechende Untersuchungen festgehalten.

II Literatur

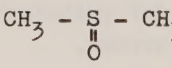
1. Chemisch-physikalische Eigenschaften von DMSO:

DMSO ist bei Zimmertemperatur eine wasserklare, farb- und geruchlose Flüssigkeit mit stark hygroskopischen Eigenschaften.

Physikalische Daten von DMSO (4o):

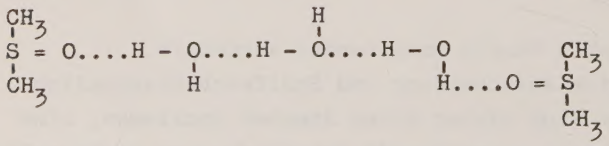
1. Molekulargewicht	78,13
2. Dichte bei 25° C	1,0958 g/cm^3
3. Siedepunkt bei 76o mm Hg	189° C
4. Schmelzpunkt	18,55° C
5. Dielektrizitätskonstante bei 25° C	46,7

Die Molekülstruktur von DMSO ist pyramidenförmig. Beim Erstarren bilden sich monokline Kristalle. Die Strukturformel läßt sich folgendermaßen schreiben:

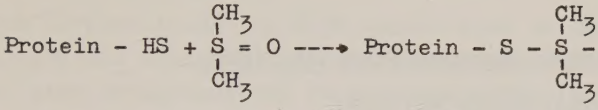


(LEAKE, 39).

Im DMSO-Molekül sind die Elektronen mehr zum Sauerstoff- als zum Schwefelatom verlagert. Die Schwefel-Sauerstoffbindung stellt ein starkes Dipolmoment dar. Dies wiederum hat Einfluß auf die Dielektrizitätskonstante. DMSO ist leicht basisch. Die Bindung zwischen Wassermolekülen und DMSO-Molekülen ist 1 1/3 mal so stark wie die Bindung von Wassermolekülen untereinander (GREGOR, 4o). Diese Fähigkeit beruht auf der stärkeren Wasserstoffbrückenbindung. DMSO-Moleküle bilden untereinander ebenfalls, wie Wassermoleküle, Ketten. Beim Zusammentreffen von Wasser- und DMSO-Molekülen kommt es zu einer kompetitiven Verdrängung von Wasser. Man kann sich die Wasserstoffbrückenbindung zwischen Wasser und DMSO etwa so vorstellen:



Die Wasserstoffbrückenbindung ist von Bedeutung bei der Erklärung der Penetration von DMSO durch biologische Membranen. Von besonderem Interesse für den Chemiker ist die Reaktion von DMSO mit Thiolgruppen, wie sie WOOD u.a. (5) postulieren:



Diese Thiolgruppen kommen nicht nur in Enzymen, sondern auch in Membranproteinen vor.

DMSO hat ein besonderes Lösungsvermögen. Gelöst werden z.B. Äthanol, Äther, Chloroform, Kohlenwasserstoffe, z.T. Kunststoffe, jedoch nicht Paraffin und höhere Alkohole.

Weiterhin neigt DMSO zur Solvatbildung mit Kationen. Das heißt, bei Reaktionen mit Metallsalzen werden 1 - 8 DMSO-Moleküle angelagert (GREGOR, 4o). DMSO ist mit starken Oxydationsmitteln zu Dimethylsulfon ($DMSO_2$) oxydierbar. Mit starken Reduktionsmitteln wird es zu Dimethylsulfid (DMS) reduziert.

Beim DMS handelt es sich um eine farblose, unangenehm nach Knoblauch riechende, bei Zimmertemperatur ölige Flüssigkeit, die unlöslich in Wasser, aber löslich in Äthanol und Äther ist.

Physikalische Daten von DMS (52):

1. Molekulargewicht	62,13
2. Schmelzpunkt	$-83{,}2^{\circ}$ C
3. Siedepunkt	$37{,}3^{\circ}$ C
4. Dichte bei $2o^{\circ}$ C	0,8449 g/cm^3

$DMSO_2$ ist eine wasserlösliche, farb- und geruchlose, bei Zimmertemperatur kristalline Substanz. Es dient zum Teil auch als Lösungsmittel für organische und anorganische Verbindungen.

Physikalische Daten von $DMSO_2$ (52):

1. Molekulargewicht	94,13
2. Schmelzpunkt	109° C
3. Siedepunkt	233,5° C
4. Dichte bei 110° C	1,1702 g/cm^3

2. Pharmakolgische Eigenschaften von DMSO:

a) Sorptionsvermittelnde Wirkung:

Die sorptionsvermittelnde Wirkung von DMSO konnte auf verschiedene Arten demonstriert werden. Fische, die in einer DMSO-Farbstofflösung schwammen, wiesen nach einigen Stunden verfärbte Muskulatur und Organe auf (NARULA, 1o), während dies in Kontrollversuchen mit Farbstofflösung allein nicht der Fall war.

FRANZ u.a. (3) untersuchten die Sorptionsvermittlung und Penetrationsfähigkeit an der Froschhaut. SULZBERGER u.a. (4) fanden nach cutaner Applikation von DMSO-Farbstofflösung das Stratum corneum angefärbt. Nach Instillation von Evansblau zusammen mit DMSO in die Harnblase war nicht nur diese, sondern zum Teil auch das Peritoneum blau verfärbt (JACOB, 41).

WALSER und KIRSCHMER (43, 44) konnten in ihren Arbeiten zeigen, daß Penicillin in DMSO gelöst, die Euterhaut durchdringen kann. ENGELHARDT-HOFMANN (45) bestätigte dieses Ergebnis.

ZIV und Mitarbeiter (46, 47) arbeiteten mit Farbstoffen, Antibiotika und Sulfonamiden. Nach Instillation dieser in DMSO gelösten Substanzen in ein Euterviertel traten relativ hohe Konzentrationen an Farbstoffen, Antibiotika und Sulfonamiden in den anderen Vierteln auf. Einen Umweg über den Blutkreislauf schlossen diese Autoren weitgehend aus.

Auch an pflanzlichen Membranen vermag DMSO sorptionsvermittelnd zu wirken (KEIL, 1).
Als Indikator für die Sorptionsvermittlung in den hier

beschriebenen Versuchen dienten Farbstoffe oder z.B. Antibiotika. Nach RITSCHEL (14) soll ein Sorptionsvermittler den Wirkstoff bei der Penetration von Membranen unterstützen. Dies ist für DMSO offensichtlich der Fall.

b) Wirkung auf Zellen:

Nach Verabreichung von DMSO ergibt sich im Anschluß an körperliche Tätigkeit ein Enzymspektrum im Serum, das auf eine Steigerung der Zellpermeabilität in Leber, Muskel, Herz und Erythrozyten hinweist (ALTLAND und Mitarbeiter, 6). Außerdem hämolysieren die Erythrozyten bei höheren DMSO-Konzentrationen (GERHARDS und Mitarbeiter, 16, 32). Andererseits hat DMSO auf Zellen eine Strahlenschutz- und Gefrierschutzwirkung (ASHWOOD-SMITH, 7). Erstere ist wohl auf das Wegfangen der schädigenden freien Radikale durch DMSO zurückzuführen (RAMMLER und Mitarbeiter, 42).

Die Gefrierschutzwirkung hängt mit der Polarität der Substanz zusammen.

c) Penetrationsfähigkeit:

DMSO penetriert biologische Membranen, wie z.B. die Haut und verteilt sich im Organismus. Dies wurde in verschiedenen Untersuchungen, u.a. von HUCKER und Mitarbeitern (29) nachgewiesen. Die Penetrationsfähigkeit beruht vor allem auf einer kompetitiven Verdrängung von Wassermolekülen aus den Hydrationshüllen der Membranproteine (RAMMLER und Mitarbeiter, 42).

Inwieweit Wechselwirkungen mit Thiolgruppen eine Rolle spielen, ist nicht bekannt.

d) Potenzierende Wirkung:

DMSO verstärkt die Wirkung von Insulin (JACOB, 41).

e) Antipsychotische und sedative Wirkung:

RAMIREZ und LUZA (2) erzielten bei Fällen von Schizophrenie und anderen Psychosen nach Applikation von DMSO

eine Besserung. Außerdem zeichnet sich DMSO, wie auch JACOB (41) beobachtete, durch eine leicht sedative Wirkung aus.

f) Analgetische und antiphlogistische Wirkung:

Am Nerven wurde eine Herabsetzung der Erregungsleitung durch DMSO festgestellt (SAMS, 53). Eine analgetische, wie auch antiphlogistische Wirkung, wurde vor allem von JACOB (41) postuliert. HAEUSLER und JAHN (9) jedoch konnten weder eine oberflächenanästhetische, noch eine analgetische bzw. antiphlogistische Wirkung beobachten.

g) Wirkung auf Enzyme:

GERHARDS und Mitarbeiter (2o) untersuchten in vitro den Einfluß von DMSO auf Urease, Trypsin und Chymotrypsin. Mit steigender DMSO-Konzentration sank die Enzymaktivität. WESTENFELDER und LORENTZ (73) konnten dies bestätigen. Als Ursache vermuten diese Autoren eine Konformationsänderung des Enzymmoleküls infolge Dehydration. Vereinzelt wurde auch über eine Erhöhung von Enzymaktivitäten (z.B. Alanindehydrogenase) durch DMSO berichtet (RAMMLER, 11). Verschiedentlich ist zunächst eine Erhöhung der Enzymaktivität zu bemerken, die dann aber bei steigender DMSO-Konzentration in eine Reduktion der Enzymaktivität übergeht (MONDER, 12). Ein Beispiel dafür ist die Desoxyribonuklease (12).

h) Diuretische Wirkung:

Die diuretische Wirkung von DMSO beruht nach JACOB (41) wohl auf einem osmotischen Effekt. Die Steigerung der Diurese wurde von FORMANEK und SUCKERT (5o) an Ratten nachgewiesen. Beim Menschen wurde dies nicht beobachtet.

i) Bakteriostatische und fungistatische Wirkung:

In Konzentrationen von 2o% (JACOB, 41) bzw. 25% (SEIBERT und Mitarbeiter, 13) hat DMSO in wässriger Lösung eine bakteriostatische Wirkung. Bakterizid wirkt DMSO bei einer Konzentration von 3o% (POTTZ u.a., 49).

KITZMÜLLER (51) schreibt dem DMSO in Konzentrationen unter 1% keine fungistatische Wirkung zu. Erst in höheren Konzentrationen wird das Pilzwachstum beeinträchtigt. Bei allen diesen Untersuchungen handelt es sich um in vitro-Versuche.

j) Wirkung auf das Kollagen:

Als Maß für den Kollagenabbau zogen GRIES u.a. (8) die Hydroxyprolinausscheidung im Harn heran. Bei gesunden Versuchspersonen nahm die Ausscheidung nach DMSO-Verabreichung ab. SCHERBEL (62) beobachtete dagegen bei Sklerodermie-Patienten, die mit DMSO behandelt wurden, einen Anstieg der Hydroxypolinausscheidung im Harn. GRIES u.a. (8) schlossen daraus, daß pathologisch verändertes Kollagen durch DMSO andersartig beeinflußt wird als unverändertes Kollagen. Auch FROMMHOLD u.a. (61) bemerkten einen verstärkten Abbau des pathologisch veränderten Kollagens nach DMSO-Applikation. Er erklärte dies mit einer Verschiebung des Gleichgewichts von Synthese und Abbau zugunsten von letzterem.

3. Nebenwirkungen von DMSO:

Hier ist in erster Linie die Hautreizung zu nennen. Sie äußert sich in Erythem-, Schuppen- oder Blasenbildung, die mit Brennen und Juckreiz einhergehen. Die Erscheinungen sind gering und gehen schnell zurück. Generalisierte Dermatitis (2% der Fälle) oder Urticaria beim Menschen (3°/oo der Fälle) treten selten auf (JACOB, 41).

Bei den Patienten machte sich der Geruch nach Knoblauch in der Ausatmungsluft unangenehm bemerkbar. SINGH und Mitarbeiter (55) wiesen eine Schleimhautreizung des Euters nach intramammärer Applikation von DMSO ins Euter vom Rind anhand von Leukozytenzählungen in der Milch nach.

4. Toxikologie von DMSO:

JACOB (41) vergleicht die Toxizität von DMSO mit der von Äthylalkohol. Auch LEAKE (37, 39) betont, daß DMSO wenig toxisch ist. Dies gilt besonders für Konzentrationen unter 70%.

GÜNZEL und RICHTER (63) prüften bei den toxikologischen Untersuchungen den Blutstatus und die Organfunktionen. Außerdem führten sie histologische Untersuchungen an verschiedenen Organen durch. Ihrer Meinung nach ist die Toxizität nach einmaliger Applikation gering.
Schließlich entdeckte man jedoch Veränderungen am Auge. Es traten Refraktionsänderungen an der Linse auf, die auf eine Substitution des Wassers durch DMSO zurückzuführen sein dürften. Diese Beobachtung machte KLEBERGER (66) bei Hunden, denen hohe DMSO-Gaben (5 ml 25%iges DMSO/kg KG) verabreicht wurden. In den Untersuchungen von RUBIN und BARNETT (69) lag die Dosierung ebenfalls über 1 g DMSO/kg Körpergewicht. Sie erzeugten Linsenveränderungen bei Kaninchen, Schweinen und Hunden.
KRAMER (54), WOOD und WIRTH (67) erzielten bei Dosierungen bis 1 g/kg/Tag bei Kaninchen, Ratten, Affen, Hunden und Schweinen keine Augenveränderungen. Ebensowenig wurden beim Menschen Refraktionsänderungen der Linse nach länger dauernder DMSO-Behandlung beobachtet (KUTSCHERA, 64; HOFFMANN und Mitarbeiter, 65).
Teratogene Auswirkungen untersuchten CAUJOLLE u.a. (68). Sie konnten bei Ratte und Maus nur bei hohen Dosierungen registriert werden.

5. Klinische Anwendung:

JACOB und ROSENBAUM (41) nennen als Indikation für die DMSO-Applikation beim Menschen an erster Stelle Muskel- und Skeletterkrankungen. Sie behandelten Periarthritiden, Bursitiden und Arthrosen, Gicht und Sklerodermie mit DMSO. Nach Befunden von STEINBERG (56) sprachen 79% der Patienten mit Erkrankungen des Muskel-und Skelettsystems gut auf die DMSO-Behandlung an.
TEIGLAND und SAURINO (57) behandelten Verletzungen beim Pferd mit DMSO erfolgreich. Es handelte sich dabei z.B. um offene Wunden, subcutane Oedeme, Bursitiden, Tendinitiden u.a. mehr.
Bei der Panleukopenie der Katze kombinierte DAKE (58) die herkömmliche Therapie mit DMSO. Die Mortalitätsrate betrug bei Anwendung der üblichen Behandlungsmethoden 60 - 90%. Bei zusätzlicher intraperitonealer Applikation von DMSO

erniedrigte sie sich auf ca. 3o%.
ZIV-SILBERMANN (48) verwandte DMSO zusammen mit Antibiotika mit gutem Erfolg bei der Behandlung von chronischen Mastitiden.

6. Stoffwechselverhalten:

a) $DMSO_2$ in biologischem Material:

Daß das Oxydationsprodukt von DMSO, also das $DMSO_2$, natürlicherweise im biologischen System vorkommt, entdeckte man bereits 194o.

RUZICKA u.a. (25) untersuchten Rinderblut auf seine Inhaltstoffe. In einem Acetonextrakt aus 1ooo kg Rindertrockenblut entdeckten sie eine wasserlösliche und kristallisierbare Substanz mit einem Schmelzpunkt von 11o° C und der Bruttoformel $C_2 H_6 O_2 S$. Insgesamt befanden sich 3,5 g der Substanz in 1ooo kg Trockenblut, wobei allerdings Extraktionsverluste nicht ausgeschlossen werden konnten. Diese Substanz wurde als $DMSO_2$ identifiziert. Zum ersten Mal wurde damit bewiesen, daß $DMSO_2$ natürlicher Bestandteil des tierischen Organismus ist.

Noch im gleichen Jahr isolierten PFIFFNER und NORTH (21) bei der Gewinnung von Nebennierenrindenhormonen die gleiche Substanz aus der Rindernebenniere. In 1ooo kg Nebenniere befanden sich 186 mg $DMSO_2$. Den Autoren war bewußt, daß die tatsächliche Konzentration im Blut und Gewebe höher liegt.
Derartige Konzentrationsbestimmungen gelangen schließlich WILLIAMS u.a. (24, 26) als sie Menschenharn und Rindermilch gaschromatographisch auf $DMSO_2$ untersuchten. Die in 24 Stunden im Menschenharn ausgeschiedene $DMSO_2$-Menge lag zwischen 4 und 11 mg.
Das Infrarotspektrum und die Schmelzpunktbestimmung der Substanz dienten zur Identifikation.
Vielleicht stammt das im Organismus bzw. im Harn nachgewiesene $DMSO_2$ aus den aufgenommenen Nahrungsmitteln. DMS konnte in Nahrungsmitteln bereits nachgewiesen werden.
Auch bei der Metabolisierung der schwefelhaltigen Aminosäuren könnte $DMSO_2$ entstehen. Es tauchte auch der Gedanke

auf, Kuhmilch könnte eine Quelle für Sulfone sein (24). Tatsächlich konnten WILLIAMS u.a. (24) 6,1 bis 8,2 mg $DMSO_2$ in 1 Liter Milch finden. DMSO dagegen wurde in der Milch nicht nachgewiesen. Die Nachweisgrenze betrug dabei o,5 mg/l.
Da sich in saurer Milch keine Zunahme der $DMSO_2$-Konzentration ergab, ist es wahrscheinlich, daß es sich bei $DMSO_2$ nicht um ein Produkt von Mikroorganismen handelt, sondern daß $DMSO_2$ mit der Milch ausgeschieden wird.

b) DMS in biologischem Material:

Auch das Reduktionsprodukt von DMSO, also das DMS, wurde in biologischem Material entdeckt.

> "DMS entsteht z.B. beim Kochen zahlreicher Nahrungsmittel sowie unter Einfluß von Hitze und Mikroorganismen aus S-Methylmethionin, das in zahlreichen Nahrungsmitteln enthalten ist" GERHARDS und GIBIAN (32).

KEENAN und LINDSAY (22) machten in diesem Zusammenhang eine interessante Entdeckung. Der DMS-Gehalt in der Milch wurde durch Kochen erhöht. Dies zeigt an, daß es eine hitzelabile Substanz geben muß, aus der DMS hervorgeht. Mit Hilfe gaschromatographischer Untersuchungen konnte diese Substanz der Magermilchfraktion zugeordnet werden. Die Substanz wurde aufgrund ihrer Hitzelabilität und mit dünnschichtchromatographischen Methoden bestimmt. Es handelte sich um ein Methylmethioninsulfoniumsalz. Beim Erhitzen verschwand diese Substanz langsam, während der Gehalt an Homoserin und DMS anstieg.

DMSO selbst ist weder bei Tieren noch bei Pflanzen als natürlicher Bestandteil nachgewiesen worden. Da DMSO die mittlere Oxydationsstufe zwischen DMS und $DMSO_2$ darstellt, muß es also einen Umwandlungsmechanismus geben.

c) Beeinflussung von DMS, DMSO und $DMSO_2$ durch biologische Systeme:

SOMMER und TAUBERGER (71) inkubierten Leberhomogenate in DMSO. Nach kurzer Zeit war ein deutlicher Sulfidgeruch

wahrnehmbar. Dasselbe passierte, als sie Cystein und DMSO zusammengaben. Als Reaktionsprodukte fielen dabei Cystin und DMS an. Demnach reduziert das Cystein das DMSO. Ebenso wirkt Glutathion auf DMSO, während die Ascorbinsäure keine reduzierende Wirkung auf DMSO zeigt (DI STEFANO u.a., 28).

GERHARDS und GIBIAN (16) demonstrierten, daß die Leber DMSO auch zu $DMSO_2$ oxydieren kann. Lebergewebe von männlichen Ratten wurde zur Untersuchung herangezogen. Die Oxydation war enzymatischer Natur. Bei Anwesenheit von NADPH und molekularem Sauerstoff oxydierte das mikrosomale Enzymsystem DMSO zu $DMSO_2$.

Grundlegende Versuche zum Verhalten von DMSO im biologischen System unternahmen RAMMLER und ZAFFARONI (42). Das Bacterium Aerobacter aerogenes diente ihnen als Studienobjekt. Bei der Züchtung wurde als einzige Schwefelquelle DMS oder DMSO bzw. $DMSO_2$ angeboten. Nach den Wachstumsraten zu schließen schien es, als könne $DMSO_2$ von den Bakterien besser verwertet werden als DMS oder DMSO. Aus dem Verhalten eines anderen Bakterienstammes, der infolge Mutation besondere Eigenschaften besaß, zogen diese Autoren den Schluß, daß das DMSO wahrscheinlich zu Sulfat umgewandelt wird und dann als Schwefelquelle dient. Wurde im Nährmedium nur DMS angeboten, so konnte gaschromatographisch kein DMSO festgestellt werden. DMS jedoch war sowohl im DMSO- als auch im $DMSO_2$-Nährmedium vorhanden. Dies legt die Vermutung nahe, daß DMS nicht zu DMSO oxydiert, aber DMSO und $DMSO_2$ von den Bakterien reduziert wurde. Außerdem unternahmen RAMMLER und ZAFFARONI (42) Stoffwechselversuche mit ^{14}C-markiertem DMSO. Dabei fanden sie die Radioaktivität zu 8o% im Kohlendioxyd wieder. Also scheint der DMSO-Umbau hauptsächlich oxydativer Natur zu sein. Ein geringer Teil der Aktivität war an die Zelle gebunden. Er konnte den Ribonukleinsäuren zugeordnet werden.
Die Autoren kommen zu der, wie sie zugeben, etwas spekulativen Schlußfolgerung, daß DMSO im biologischen System vollständig abgebaut werden kann.

GERHARDS und GIBIAN (16) wiesen für DMSO nach, daß es im

Organismus von höheren Lebewesen nur zu einem sehr geringen Teil demethyliert und zu Sulfat oxydiert wird. Ratten wurde markiertes DMSO intravenös injiziert. Nach 24 Stunden war weniger als o,o2% der Aktivität in der $BaSO_4$-Fällung des Harns nachweisbar.
MAW (7o) stellte fest, daß nach DMS-Verabreichung an Ratten die Sulfatausscheidung im Harn nicht erhöht war.

Auch nach Meinung von WILLIAMS und Mitarbeitern (31) wird DMS im Organismus nur zu einem geringen Teil demethyliert. Die Autoren verabreichten DMS an Kaninchen und untersuchten die Metaboliten, die über den Harn ausgeschieden wurden. DMSO und $DMSO_2$ konnten nachgewiesen werden, nicht jedoch DMS. Vermutlich sind DMSO und $DMSO_2$ die Hauptmetaboliten von DMS im Harn. Der nicht wieder aufgefundene Rest der applizierten DMS-Menge ist möglicherweise über die Ausatmungsluft ausgeschieden worden.

Nach MAZEL u.a. (72) wird DMS im Gegensatz zu manchen anderen S-Methyl-Verbindungen nicht demethyliert. Daher ist das DMS vermutlich als ein Endprodukt der Metabolisierung von DMSO aufzufassen.

Zur Untersuchung der DMSO-Metaboliten verabreichten WILLIAMS und Mitarbeiter (31) ^{14}C-markiertes DMSO an Kaninchen. Die flüchtigen Bestandteile des Harns waren nicht radioaktiv kontaminiert. Daher wird wahrscheinlich wenig oder gar kein DMS im Harn ausgeschieden. Im Harn wurden 35% der Dosis als DMSO und 9,5% als $DMSO_2$ aufgefunden. Da die Unterschiede zwischen der Radioaktivitätsbestimmung und der aus dem isolierten DMSO und $DMSO_2$ berechneten Radioaktivität innerhalb der Fehlergrenzen lagen, scheint DMSO über die Niere hauptsächlich in Form von DMSO und $DMSO_2$ ausgeschieden zu werden. Unberücksichtigt blieb bei dieser Untersuchung die Ausscheidung von DMSO-Metaboliten über die Ausatmungsluft. Hier konnten DI STEFANO und Mitarbeiter (35) DMS als Metaboliten identifizieren.
Katzen wurden mit DMSO behandelt und die Ausatmungsluft gaschromatographisch und massenspektrographisch untersucht.

Wie in den vorhergehenden Versuchen studierten WILLIAMS und Mitarbeiter (31) die Metabolisierung von $DMSO_2$, indem sie

markiertes $DMSO_2$ verabreichten. Im Harn von unbehandelten Kaninchen konnten sie endogenes $DMSO_2$ nachweisen. Nach der $DMSO_2$-Applikation wurde gaschromatographisch zwar $DMSO_2$, aber kein DMSO im Harn aufgefunden. Die Expirationsluft roch in diesem Versuch, im Gegensatz zum vorherigen, nicht nach DMS (Knoblauchgeruch). Die gesamte Radioaktivität im Harn war an $DMSO_2$ gebunden und betrug 76% der Dosis. Da das Zwischenprodukt DMSO nicht aufgefunden wurde, ist es unwahrscheinlich, daß die Tiere DMS ausgeschieden haben.

Aus der Verteilung von DMSO im Rattenorganismus schlossen DENKO und Mitarbeiter (19), daß der Schwefel in dieser Verbindung weitgehend dem Verhalten des organischen Schwefels folgt. Zwischen dem organischen und anorganischen Schwefel nimmt DMSO eine Zwischenstellung ein. Bei organischen Verbindungen spielen vor allem SH- und $S-CH_3$-Gruppen eine Rolle, beim anorganischen Schwefel das Sulfat. Nur wenig organischer Schwefel wird wie anorganisches Sulfat metabolisiert. Letzteres wird weitgehend im Bindegewebe in Form der Chondroitinschwefelsäure und verwandten Verbindungen eingebaut. Sulfoxide sind in vitro schwer zu oxydieren, können aber anscheinend zu SH-Gruppen reduziert und dann in den Schwefelstoffwechsel eingebaut werden.

d) DMSO-Gehalt des Blutes nach unterschiedlicher Applikation von DMSO:

Eingehende Untersuchungen über die Resorption, Verteilung, Ablagerung, Ausscheidung und Umsetzung von radioaktiv markiertem DMSO im Organismus unternahmen KOLB und Mitarbeiter (15, 17, 6o, 23, 33).

Entsprechend den beschriebenen Eigenschaften interssierte zunächst die Frage, wann cutan aufgetragenes DMSO ins Blut gelangt und wie lange es dort verweilt. Die Messungen wurden radiometrisch durchgeführt. Es wurde also nur die Radioaktivität im Blut bestimmt und nicht das DMSO selbst. Metaboliten und Abbauprodukte wurden miterfaßt. Die Autoren verabreichten ^{35}S- bzw. ^{3}H-markiertes DMSO.

Die in diesen Versuchen bei Ratten im strömenden Blut gemessene Impulszahl nach cutaner Gabe von DMSO (o,1 g/Tier) stieg steil an, um bereits nach 1o Minuten ein Plateau zu erreichen.

Die maximale Konzentration lag umgerechnet bei 18 mg DMSO/ 1oo ml Blut. Die biologische Halbwertszeit betrug über 1o Stunden. Nach intravenöser Applikation nahm die Radioaktivität des Blutes zunächst rasch ab, um sich schließlich allmählich auf ein Niveau einzupendeln, das über mehrere Stunden gleich blieb.

Bei Hunden war ein ähnliches Ergebnis zu beobachten. Die Anflutung nach cutaner Gabe dauerte lediglich länger als bei der Ratte. Erst nach 45 Minuten wurde das Plateau erreicht, das für Stunden unverändert blieb. Die maximale Konzentration betrug 8 - 12 mg DMSO/1oo ml Blut.
Nach intravenöser Injektion sank die Aktivität des Blutes, analog zu den Versuchen an der Ratte zunächst rasch ab, um dann ein Aktivitätsniveau zu erreichen, das für ca. 5 Stunden aufrechterhalten wurde.

Bei der Meerkatze war im peripheren Venenblut eine Stunde nach cutaner Verabreichung der Maximalwert erreicht, der sich während der Beobachtungszeit von mehreren Stunden nicht verringerte.

Beim Pavian ergaben sich nach cutaner Applikation folgende Werte (o,5 g/Tier):

Erreichung des Plateaus	6 Stunden
Dauer des Plateaus	24 Stunden
Konzentrationsmaximum	2 - 3 mg DMSO/1oo ml Blut.

Die Aktivität ging nach 48 Stunden um 3o - 5o% der Maximalaktivität zurück, nach 3 Tagen um 75%.
Beim Menschen wurden von KOLB (17) entsprechende Versuche durchgeführt. Hier die Werte für die cutane Applikation (2 g/Versuchsperson):

Erreichung des Plateaus	4 - 6 Stunden
Dauer des Plateaus	1 1/2 - 3 Tage
Konzentrationsmaximum	2 - 3 mg DMSO/1oo ml Blut.

Am sechsten Tag war die Aktivität gegenüber dem Maximum um 2o - 4o% abgefallen, nach 8 Tagen um etwa 7o%.

HUCKER und Mitarbeiter (27, 29, 3o, 34) führten entsprechende Untersuchungen durch. Sie begnügten sich aber nicht mit Radioaktivitätsbestimmungen, sondern arbeiteten auch gaschromatographisch. So konnten sie sowohl das DMSO als auch das $DMSO_2$ in Geweben, Harn und Blut bestimmen. Das Konzentrationsmaximum von DMSO und $DMSO_2$ im Serum beim Menschen, das etwa 12 Stunden nach cutaner DMSO-Applikation (1 g/kg) auftrat, betrug rund 6oo mg/l (3o). Nach ungefähr 22o Stunden lag der entsprechende Wert bei annähernd 1oo mg/l. Die DMSO-Werte erreichten nach etwa 4 - 8 Stunden, die $DMSO_2$-Werte nach 36 - 72 Stunden ihr Maximum. Die biologische Halbwertszeiten lagen für DMSO bei 11 - 14 Stunden, für $DMSO_2$ bei 6o - 7o Stunden. Nach 36 - 48 Stunden war die DMSO-Konzentration im Serum praktisch gleich Null, wohingegen selbst nach 312 Stunden noch kleine $DMSO_2$-Konzentrationen nachweisbar waren.

Nach cutaner Behandlung von Ratten mit radioaktiv markiertem DMSO (o,55 g DMSO/kg Körpergewicht) war die maximale Aktivität im Blutplasma nach 2 Stunden erreicht, bei oraler und intraperitonealer Applikation bereits nach 1/2 - 1 Stunde (29). Die Werte für die beiden letzten Applikationsarten entsprachen sich in etwa.

Die durchschnittliche Halbwertszeit betrug 6 Stunden. Nach 24 Stunden wurden nur noch 5 - 1o% des Maximalwertes gemessen.
Aus den graphischen Darstellungen der Autoren lassen sich nach 1 Stunde folgende Konzentrationswerte ablesen:

cutane Applikation etwa 4oo mg DMSO/l Blut
orale Applikation etwa 7oo mg DMSO/l Blut
intraperitoneale Applikation etwa 8oo mg DMSO/l Blut.

Der Verlauf der Serum-Konzentration gestaltete sich beim Menschen folgendermaßen:

1.) nach cutaner Applikation an zwei Versuchspersonen (1 g DMSO/kg Körpergewicht):

Stunden	DMSO in mg/l	$DMSO_2$ in mg/l
1	287 - 299	23 - 24
24	337 - 172	229 - 214
48	0	464 - 327
264	0	95 - 35

2.) nach oraler Applikation an sechs Versuchspersonen (1 g DMSO/kg Körpergewicht):

Stunden	DMSO in mg/l	$DMSO_2$ in mg/l
1	579 - 2532	0 - 34
24	494 - 1403	77 - 196
120	0	118 - 321
312	0	35 - 47

Die biologische Halbwertszeit von DMSO betrug 2o Stunden, bei $DMSO_2$ etwa 72 Stunden. Während nach 12o Stunden kein DMSO mehr nachgewiesen wurde, war nach 4oo Stunden noch $DMSO_2$ in Spuren nachweisbar.

e) Rückstände von DMSO an der behandelten Hautstelle:

Hautexzisionen wurden von KOLB und Mitarbeitern (33) bei Hunden an der behandelten Hautstelle durchgeführt, um den nicht resorbierten Anteil der applizierten DMSO-Dosis zu bestimmen. Nach 4 Stunden wurden noch 2o%, nach 24 Stunden 7% und nach 14 Tagen o,o3% der aufgetragenen DMSO-Dosis in der Haut gefunden.

Beim Menschen befanden sich in den oberflächlichen Hautschichten 8 Stunden nach dem Auftragen von DMSO noch 2o% der Dosis (17).

Auch beim Pavian wurden Hautproben untersucht. Nach 1 Stunde waren fast 5o% der DMSO-Dosis resorbiert. Nach 8 Stunden waren nur noch 3% der Dosis in der Haut vorhanden. Der insgesamt nicht absorbierte Anteil war kleiner als 1% der DMSO-Menge. In der Subcutis war bereits nach 7 Minuten markiertes DMSO nachweisbar. Die Impulszahl stieg in der Subcutis

bis zur ersten Stunde nach der Applikation an und blieb dann mehrere Stunden gleich (15).

Auch HUCKER und Mitarbeiter (29) entnahmen Proben der behandelten Hautstellen. Als Versuchstiere dienten in diesem Fall Ratten und Kaninchen.
An der Applikationsstelle befanden sich nach einer halben Stunde noch 63% der Gesamtdosis, nach 1 Stunde 19% und nach 2 Stunden 14%. Nach 24 Stunden entsprach die Radioaktivität an dieser Stelle der der übrigen Haut.

Beim Kaninchen sahen die Werte folgendermaßen aus:
Nach einer halben Stunde waren noch 85% der applizierten Dosis in der behandelten Hautstelle nachweisbar, nach 4 Stunden noch 11%.
Die Haut insgesamt enthielt nach 24 Stunden, unabhängig von der Applikationsart, 3 - 7% der Dosis.

f) Verteilung von DMSO in den Geweben:

KOLB (17) untersuchte die Verteilung der Radioaktivität in den Organen nach Applikation von radioaktiv markiertem DMSO. In den untersuchten Rattenorganen war keine Anreicherung festzustellen. Selbst nach mehrmaliger Verabreichung konnte keine Kumulation in einem der Organe beobachtet werden.
Von Ratten wurden nach der Applikation von markiertem DMSO auch Ganzkörperautoradiogramme angefertigt. Das vorhergehende Ergebnis konnte weitgehend bestätigt werden. Lediglich in den ersten Stunden war die behandelte Stelle der Rückenhaut stärker kontaminiert als die übrigen Körperabschnitte. Zusätzlich wurden Beaglehunde (15) cutan 6o Tage lang mit markiertem DMSO behandelt. Sie wurden 2o bzw. 55 Tage später getötet. Im Harn und Kot waren bis dahin 75 - 83% der Dosis ausgeschieden. Außer in dem behandelten Hautgebiet und dem darunter liegenden Gewebe fand sich nirgends eine DMSO-Akkumulation. In dem kontaminierten Bereich lag die Aktivität um das Achthundertfache höher als in den anderen Organen. Von der vorhandenen Gesamtaktivität enthielt die Haut 6o% (davon die unbehandelte Haut nur 9 - 1o%), die Muskulatur etwa 25%, die übrigen 3o Organe o,o1 - 1% (17). Knorpel, Synovia und

Knochen enthielten, verglichen mit den anderen Geweben, wenig Aktivität.
Von besonderem Interesse ist aufgrund der beobachteten Augenveränderungen die quantitative DMSO-Verteilung in verschiedenen Augenabschnitten.
Bei Ratten und Kaninchen war nach cutaner Anwendung von radioaktiv markiertem DMSO die Radioaktivität in der Kornea größer als in den übrigen Augenabschnitten und im Blutplasma (15). Die maximale DMSO-Konzentration nach 2 Stunden war in der Kornea viermal größer als in der Linse. Nach 24 Stunden lagen die Konzentrationswerte aller Augenabschnitte niedriger als die Plasmakonzentration. Bei längerer Behandlung stieg die aus der Radioaktivität errechnete DMSO-Konzentration im Auge lediglich in der Iris und im Ziliarkörper an.

GERHARDS und GIBIAN (16) konnten die Befunde am Auge hinsichtlich der höheren Aktivität in der Kornea durch einen in vitro Versuch stützen. Sie versuchten zu klären, wie sich verschiedene Gewebe von der Ratte in ihrer Affinität zu DMSO unterscheiden.
Dabei stellte sich heraus, daß die Kornea bei weitem das höchste Bindungsvermögen besitzt. Dagegen unterscheiden sich Haut, Diaphragma und Lebergewebe in ihrem Bindungsvermögen wenig. Wie die Autoren betonen, wird das Wasser auf molarer Basis im Gewebe durch DMSO ersetzt. In der Haut ist dies bis zu 50% der Fall, während in der Kornea Wasser durch DMSO völlig ersetzt werden kann. Selbst nach 24-stündiger Dialyse ist zum Teil noch ein Rest von DMSO an die Gewebe gebunden. Es dürfte sich dabei um etwa 2% handeln. Vermutlich ist dieser DMSO-Anteil irreversibel gebunden.
Bei Untersuchungen über die Strahlenschutzwirkung von DMSO registrierte ASHWOOD-SMITH (7) nach intraperitonealer Verabreichung von 4,5 g DMSO/kg Körpergewicht bei Ratten bis zur ersten Stunde einen steilen Konzentrationsanstieg im Blut, Gehirn, in den Hoden, in der Milz, Leber und Niere. Der sich anschließende Konzentrationsabfall im Blut ging sehr schnell vor sich, während er in der Niere bis zur 18.

Stunde langsam und stetig verlief. Innerhalb von 48 Stunden waren mehr als 80% der Gesamtdosis im Harn ausgeschieden.
1 1/2 Stunden nach percutaner Applikation von DMSO bei der Ratte ermittelten MC DERMOT und Mitarbeiter (38) von allen untersuchten Organen in der Niere die höchste DMSO-Konzentration. In 24 Stunden wurden 85% der verabreichten Dosis ausgeschieden.

HUCKER und Mitarbeiter (29) fanden bei Ratten in allen Geweben bereits 1/2 Stunde nach oraler Gabe von markiertem DMSO Aktivität vor. Plasma, Niere, Milz, Lunge, Herz und Hoden enthielten etwas höhere Aktivitätsspiegel als Leber, Fett, Dünndarm, Gehirn, Muskulatur und Erythrozyten. Die Konzentrationen in Hoden, Gehirn, Muskel und Herz stiegen nach einer halben Stunde an, während sie in den übrigen Organen ziemlich konstant blieben. Nach 24 Stunden war in allen Organen nur noch minimale Aktivität nachweisbar. Dünnschichtchromatographisch untersuchten die Autoren auch das Verhältnis von $DMSO_2$ zu DMSO in Rattenorganen, die 4 Stunden nach oraler Applikation entnommen wurden. Durchschnittlich lagen in Leber, Hoden, Nieren, Milz, Dünndarm, Herz und Plasma 6,5% der Gesamtdosis als $DMSO_2$ vor. Infolgedessen scheint der Hauptanteil der Radioaktivität im Gewebe von DMSO repräsentiert zu werden.
Eine halbe Stunde nach cutaner Applikation war ebenfalls Aktivität in den untersuchten Organen meßbar. Sie war jedoch geringer als nach oraler Applikation. Leber, Milz, Plasma und Lunge enthielten höhere Aktivitäten als die übrigen Gewebe. Nach 4 Stunden waren in vielen Organen die Aktivitätswerte so angestiegen, daß sie sich denen nach oraler Verabreichung angeglichen hatten. 24 Stunden nach Versuchsbeginn ließen sich in allen Geweben nur noch Spuren von Aktivität nachweisen.

Beim Kaninchen lagen eine halbe Stunde nach cutaner Verabreichung die gemessenen Werte niedriger als bei der Ratte. In diesem Versuch wurden in den verschiedenen Geweben ebenfalls unterschiedliche Aktivitäten gemessen. Nach 24 Stunden lagen die Gewebespiegel etwas höher als bei der Ratte.

Der $DMSO_2$-Gehalt in den Geweben betrug durchschnittlich 11,6% der Dosis.

DENKO und Mitarbeiter (19) haben das Verteilungsmuster von DMSO im Körper sehr eingehend studiert. Weiblichen Ratten wurde ^{35}S-markiertes DMSO cutan bzw. intraperitoneal appliziert. Zwei bzw. sechs Stunden nach der DMSO-Verabreichung wurden sie getötet und sofort seziert. Nach intraperitonealer Injektion ergab sich nachstehende Reihenfolge der Organe, geordnet nach abnehmender Aktivität (in Klammern: cpm/mg Trockensubstanz):

Milz (1268), Magen (1215), Lunge, Glaskörper, Thymus, Gehirn, Niere, Sklera, Kolon, Herz, Muskulatur (797), Haut, Leber, Aorta, Nebenniere (43).

Diese Organe lassen sich unter dem Begriff "weiche Gewebe" zusammenfassen. Bei den "harten Geweben" ergab sich folgende Reihenfolge:

Tibia (3o2), Linse, Rippenknorpel, Xiphoid, Röhrenknochen, Schädel (24).

Bei den cutan behandelten Tieren lagen die Gewebespiegel allgemein niedriger, allerdings glichen sie sich denen nach intraperitonealer Injektion bereits während des ersten Versuchstages an, um dann am zweiten und dritten Tage praktisch übereinzustimmen.

Hier die Reihenfolge nach cutaner Applikation:

Haut (4844), Magen (226), Muskel (2o2), Lunge, Sklera, Kolon, Niere, Thymus, Milz, Glaskörper, Herz, Nebenniere, Linse, Aorta, Gehirn, Leber, Tibia (95), Xiphoid, Rippenknorpel, Röhrenknochen, Schädel (12).

Im Blut war die Aktivität sehr gering; 96% davon waren an die Albuminfraktion gebunden.
Bei Verdoppelung der verabreichten Dosis (i.p.) kam es nicht zur Verdoppelung der Gewebeaktivität.
Die biologische Halbwertszeit variierte in den verschiedenen Organen. Organe mit hohem Radioaktivitätsgehalt, wie Magen, Lunge und Gehirn, haben kürzere Halbwertszeiten (1o - 12 Stunden), als die weniger kontaminierten, wie z.B.

die Nebenniere (18 Stunden).
Nach einer Woche befand sich praktisch kein DMSO mehr in irgendeinem Gewebe, unabhängig davon, ob DMSO einmal oder mehrmals appliziert wurde.

g) Ausscheidung über die Niere:

Nach Verabreichung von radioaktiv markiertem DMSO wurde die Ausscheidung über die Niere von zahlreichen Autoren untersucht.
Dazu folgende Zusammenstellung:

Literatur-stellen	Tierart	Applikations-art	Ausscheidungsdauer	% der Dosis
(33)	Ratte	i.v.	24 Std.	80
		cutan	48 Std.	85
(29)	Ratte	oral	24 Std.	67
		cutan	24 Std.	66
		i.p.	24 Std.	68
(7)	Ratte	i.p.	48 Std.	80
(38)	Ratte	cutan	24 Std.	85
(29)	Kaninchen	cutan	24 Std.	30
(60)	Kaninchen	cutan	10 Tage	90
(31)	Kaninchen	s.c.	12 Tage	50
(29)	Meer-schweinchen	i.p.	24 Std.	52
(33)	Hund	i.v.	3 Tage	83
		cutan	14 Tage	50
(15)	Meerkatze	cutan	48 Std.	65
(15)	Rhesusaffe	cutan	4 Tage	50
		oral	24 Std.	50
(15)	Pavian	cutan	14 Tage	50
		oral	24 Std.	50
(17)	Mensch	i.v.	18 Tage	100
		cutan	10-15 Tage	50
(30)	Mensch	cutan	19 Tage	30,8
		oral	120 Std.	60,4

KOLB und Mitarbeiter (60) fanden bei gleicher zugeführter DMSO-Menge einen Zusammenhang zwischen der Konzentration des applizierten DMSO und der DMSO-Ausscheidung im Harn. Zunächst wurden Ratten mit 5o%igem DMSO cutan behandelt. Sie schieden in 24 Stunden 64% der Dosis über den Harn aus. Als jedoch 1o%iges DMSO zur Behandlung genommen wurde, sank die Ausscheidungsrate im gleichen Zeitraum auf 35%

der Dosis ab.
Drei Wochen lang wurde ferner Hunden täglich 2 g markiertes DMSO auf die enthaarte Rückenhaut aufgetragen (KOLB, 17). 6o% der Dosis wurden bereits während der Applikationszeit über die Niere eliminiert. Eine Beziehung zwischen der Flächengröße der Applikationsstelle und Elimination bestand nicht. Der Verlust durch Verflüchtigung der Substanz betrug in 8 Stunden lediglich 2% der Dosis.

Zur Aufschlüsselung der Metaboliten im Harn führten HUCKER und Mitarbeiter (3o) auch gaschromatographische Untersuchungen durch.
Nach einmaliger cutaner Applikation von DMSO wurde von den Versuchspersonen ungefähr 48 Stunden lang DMSO im Harn ausgeschieden und zwar in Höhe von 13% der Dosis.
Die $DMSO_2$-Ausscheidung begann in nennenswerten Mengen erst ab der 8. Stunde, dauerte bis zum 19. Tage an und erreichte 17,8% der applizierten DMSO-Dosis. Zusammen wurden also 3o,8% der Dosis mit dem Harn eliminiert. Über den fehlenden Rest der Dosis wurden von HUCKER und Mitarbeiternfolgende Überlegungen angestellt: Ein Teil verflüchtigt, ein Teil wird an der behandelten Hautstelle zurückgehalten. Vielleicht ändert sich der Grad der Metabolisierung umgekehrt proportional zur resorbierten DMSO-Menge.
Nach oraler Gabe sistierte die Ausscheidung nach 12o Stunden. Von der Dosis waren bis dahin 5o,8% als DMSO und 9,6% als $DMSO_2$ eliminiert, also insgesamt 6o,4% der applizierten DMSO-Menge.
GERHARDS und GIBIAN (59) untersuchten ebenfalls das Verhältnis von DMSO zu $DMSO_2$ bezüglich der Ausscheidung im Harn. In 24 Stunden wurden von Ratten, denen intravenös ^{35}S-markiertes DMSO verabreicht wurde, 9o - 95% der Aktivität als DMSO und der Rest als $DMSO_2$ ausgeschieden.

Die prozentuale Verteilung zwischen DMSO und $DMSO_2$ im Harn - in Abhängigkeit von der Zeit - sieht folgendermaßen aus:

0 - 6 Stunden	7o - 9o% DMSO	1o - 3o% $DMSO_2$
24 - 48 Stunden	0% DMSO	1oo% $DMSO_2$.

Von HUCKER und Mitarbeitern (3o) wurde 14 Tage lang markiertes DMSO oral an Versuchspersonen verabreicht. Die DMSO- und $DMSO_2$-Ausscheidung im Harn war Gegenstand der Untersuchung.

Die DMSO-Konzentration stieg rasch an, um bereits 72 Stunden nach dem Absetzen der Substanz den Nullwert zu erreichen. Der $DMSO_2$-Anstieg war weniger rapid. Er benötigte etwa 8 Tage zur Erreichung des Maximalwertes. Erst 2 Tage nach dem Absetzen von DMSO begann das Absinken der $DMSO_2$-Konzentration, die dann langsam weiter bis zum 23. Tag abfiel. Bis zur Applikation der letzten Dosis wurden 49,3% als DMSO und 11,1% als $DMSO_2$ ausgeschieden. Über den ganzen Zeitraum der Ausscheidung lagen die entsprechenden Werte bei 53,7% (DMSO)bzw. 17,2% ($DMSO_2$) der Dosis. Also wurden nach mehrmaliger oraler Applikation von DMSO insgesamt über den Harn 7o,9% der Dosis eliminiert.

h) Ausscheidung über den Kot:

Nach Untersuchungen von KOLB (17) betrug die Radioaktivitätsausscheidung über die Galle nach 24 Stunden bei der Ratte etwa 7,5% des applizierten radioaktiv markierten DMSO. Da nach 5 Tagen im Kot nur 1,6% der applizierten Aktivität wiedergefunden wurden, ist eine Rückresorption zu vermuten. Im Hundekot konnte, unabhängig von der Applikationsart, keine Aktivität wiedergefunden werden. Dasselbe gilt für den Menschen. In einer anderen Arbeit (6o) fanden die Autoren o,5 - 2% der verabreichten ^{14}C-DMSO-Dosis bei Kaninchen und Hund im Kot wieder.

Auch HUCKER u.a. (29) untersuchten die Ausscheidung im Kot. Ratten eliminierten in 24 Stunden nach oraler Verabreichung 1o% der ^{35}S-DMSO-Dosis, nach cutaner Gabe 4%, Meerschweinchen nach intraperitonealer Injektion 4% der applizierten Aktivität.

Unabhängig von der Verabreichungsart waren bei allen von KOLB und JÄNICKE (15) untersuchten Affenarten 1 - 3% der Aktivität im Kot wieder auffindbar.

i) Ausscheidung im Schweiß:

Im Schweiß von Menschen fand KOLB (17) o,2% der Dosis nach Applikation von radioaktiv markiertem DMSO.

j) Ausscheidung in den Barthaaren:

Die Barthaare zeigten keine Aktivität (17) nach cutaner Applikation von radioaktiv markiertem DMSO.

k) Ausscheidung über die Milch:

Die Ausscheidung über die Milch bei Ratten war gering. Nach cutaner bzw. oraler Verabreichung wurden in 24 Stunden o,4 - o,6% der Gesamtaktivität über die Milch eliminiert (23).

l) Ausscheidung in der Ausatmungsluft:

Zur Messung der Aktivität in der Ausatmungsluft wurde nach Applikation von ^{35}S-DMSO bei Ratten die Expirationsluft durch gekühlte Absorptionsflaschen geleitet. Das Konzentrationsmaximum lag zwischen 1 - 1 1/2 Stunden bei o,1% der Dosis. Insgesamt wurden in 12 Stunden über die Lunge 3,5% ausgeschieden (17).

Beim Menschen untersuchte man die Expirationsluft zusätzlich gaschromatographisch. Es konnte bis zur 24. Stunde nach der ^{35}S-DMSO-Applikation DMS nachgewiesen werden. In 24 Stunden wurden 3% der Aktivität abgeatmet (17). In diesem Fall war das markierte DMSO intravenös injiziert worden. Die Wiederauffindung der Radioaktivität in der Expirationsluft nach cutaner Verabreichung belief sich auf 1,5 - 3% der Dosis. Paviane trugen in entsprechenden Versuchen zur Ermittlung der Radioaktivitätsausscheidung über die Expirationsluft 24 Stunden lang Atemmasken. Das Aktivitätsmaximum war nach 5 Stunden erreicht. Insgesamt wurden o,5 - 1% der in Form von ^{35}S-DMSO applizierten Aktivität ausgeschieden (17).

HUCKER u.a. (29) fanden bei mit ^{35}S-DMSO cutan behandelten Ratten in der Ausatmungsluft durchschnittlich 6% der applizierten Dosis in einem Zeitraum von 24 Stunden, beim Kaninchen nach intraperitonealer Injektion von ^{35}S-markiertem DMSO in 3 Stunden weniger als 1%.

DI STEFANO und Mitarbeiter (28, 35) beschäftigten sich eingehend mit der Ausscheidung von DMSO-Metaboliten über die Lunge. Als versuchstiere dienten den Autoren narkotisierte

Katzen. DMSO wurde intravenös injiziert. Die Ausatmungsluft wurde mit Hilfe einer Trachealkanüle direkt gaschromatographisch untersucht.
Um den Einfluß der Leber auf die DMSO-Reduktion kennenzulernen, führten sie eine Hepatektomie durch. Sekunden nach der intravenösen Applikation von DMSO erschien DMS in der Ausatmungsluft. Dies machte sich auch durch den starken Geruch bemerkbar. Mit der Geruchsprobe konnten noch DMS-Konzentrationen festgestellt werden, die unter der Nachweisgrenze des Gaschromatographen lagen. Während der ersten 9o Minuten stieg die Ausscheidung von DMS stark an und blieb dann trotz erheblicher Schwankungen während der sich anschließenden Versuchsperiode von 5 1/2 Stunden relativ konstant. In diesem Zeitraum wurden 3% der Dosis als DMS abgeatmet. Durch die Narkose der Versuchstiere kam es zu Änderungen des Respirationsvolumens. Parallel dazu schien sich die DMS-Ausscheidung zu ändern. Um diesen Zusammenhang aufzuklären, wurden Katzen mit 5oo bzw. 1ooo ml Luft/min ventiliert. Die Verdoppelung des Minutenvolumens ergab eine Senkung der DMS-Konzentration um fast die Hälfte. Die Gesamtausscheidung über die 15-Minuten-Zeiträume war jedoch im wesentlichen gleich. Daraus folgt: die DMS-Konzentration der Expirationsluft, aber nicht die Ausscheidungsmenge hängt vom Atemminutenvolumen ab.

Inwieweit die Lungendiffusion ein limitierender Faktor für die DMS-Ausscheidung ist, untersuchten DI STEFANO u.a. folgendermaßen:
An Katzen wurde intravenös DMS verabreicht und in 3-Minuten-Abständen die Ausscheidung über die Lunge gemessen. Bereits nach 12 - 15 Minuten war der DMS-Gehalt der Expirationsluft auf die Nachweisgrenze abgesunken. Es kam also zu einer sehr schnellen Eliminierung.
Wurde die verabreichte DMSO-Menge verdoppelt bzw. vervierfacht, so ergaben sich etwa proportionale Zunahmen bezüglich der DMS-Ausscheidung über die Lunge.
Die Hepatektomie änderte die Ausscheidungsverhältnisse von DMS nicht wesentlich.

m) Zusammenfassend läßt sich feststellen:

KOLB (17) kommt zu dem Schluß, daß die DMSO-Resorption nach cutaner Applikation speziesabhängig ist. Ebenso ist die Ausscheidung über den Harn abhängig von der Tierspezies und der Applikationsart.

Die Ausscheidung erfolgt in Form von DMSO und $DMSO_2$ hauptsächlich über die Niere. Der größere Anteil wird von DMSO repräsentiert (2o, 29). Die $DMSO_2$-Ausscheidung dauert wesentlich länger als die von DMSO (3o). Als Grund hierfür diskutieren HUCKER u.a. (3o) eine niedrigere Nierenclearance von $DMSO_2$, eine intensive Bindung an das Gewebe oder eine intensive Bindung eines Teils des DMSO an das Gewebe und dessen langsame Umwandlung zu $DMSO_2$.
In der Ausatmungsluft wurde als Metabolit von DMSO das DMS nachgewiesen (17, 28).
Die Ausscheidung über den Kot ist gering (17, 29).

Bei der Verteilung von DMSO im Körper von Ratten, konnte KOLB (17) keine besondere Anreicherung in irgendeinem Organ feststellen. Die zeitweilige Kumulation, z.B. in der Rückenhaut, verschwand in kurzer Zeit.

DENKO und Mitarbeiter (19) sind dagegen der Auffassung, DMSO habe die Neigung zur Kumulation in weichem Gewebe, wie Magen, Milz und Gehirn.

Auch HUCKER und Mitarbeiter (29) fanden unterschiedliche Aktivitätsspiegel in den verschiedenen Geweben. Sie konnten jedoch keine Unterscheidung zwischen "hartem und weichem Gewebe" treffen. Die Aktivität in allen Geweben sank in kurzer Zeit bis zur Nachweisgrenze ab.

III Eigene Untersuchungen

1. Problemstellung:

Es wurde untersucht, inwieweit DMSO nach Applikation von ^{14}C-markiertem DMSO bei Kälbern und Kühen quantitativ ausgeschieden wird, und welche Rolle die bisher bekannten Metaboliten DMS und $DMSO_2$ bei der Ausscheidung spielen. Die Wiederauffindung der ^{14}C-Aktivität nach ^{14}C-DMSO-Verabreichung wurde im Harn, Kot und Gewebe und in der Milch sowie in der Expirationsluft gemessen. Zusätzlich wurde zum Teil der Harn gaschromatographisch auf DMSO und $DMSO_2$ untersucht.

2. Methodik:

a) Versuchstiere:

Die Versuche wurden an 5 Kälbern und 2 Kühen durchgeführt. Bei den Kälbern handelte es sich um männliche Tiere im Alter von 2 - 4 Wochen mit einem Gewicht von ungefähr 5o - 65 kg (4 Grauvieh-Kälber und 1 Höhenfleckvieh-Kalb).

Für die Kuhversuche standen zwei Tiere des Schwarzbunten Niederungsviehs im Alter von etwa 3 Jahren zur Verfügung. Eine Kuh war im fünften Monat trächtig. Dieses Tier hatte im Vergleich zur anderen Kuh eine geringere Tagesmilchleistung (1o l/Tag im Vergleich zu 16 l/Tag).

b) Tierhaltung und Fütterung:

Die Kälber wurden in einem Stoffwechselkäfig bei Zimmertemperatur gehalten. Das Kalb V wurde mit Heu zur freien Aufnahme gefüttert. Wasser wurde ebenfalls ad libitum angeboten.
Die anderen Kälber erhielten zweimal täglich 3 - 4 l Milchaustauschertränke (125 g Milchaustauscher[1]/l Wasser).
Die Temperatur der Tränke betrug 39° C.
Bei einem Kalb (Kalb III) mußte kurzfristig ein Antidiarrhoikum appliziert werden.

[1] Milchaustauscher "MK 1" der Inntaler Mischfutter GmbH & Co KG, Reitmehring:
Gehalt an wertbestimmenden Bestandteilen:
24,5% Rohprotein; 16,3% Fett; 0,3% Rohfaser;
Gehalt an schwefelhaltigen Aminosäuren: 0,9%

Die Kühe wurden im Stall des Instituts untergebracht. Vor Versuchsbeginn wurden sie zweimal täglich gemolken. Heu konnten sie ad libitum aufnehmen. Außerdem bekamen sie pro Tag 4 kg Kraftfutter (DLG-Milchviehfutter IV). Auch Rüben wurden angeboten.

c) Sammlung von Harn, Kot und Milch:

Bei den Kälbern befand sich am Gitterboden des Stoffwechselkäfigs eine trichterförmige Vorrichtung zur Ableitung des Harns in eine Plastikwanne.
Der Kot wurde in Plastikbeuteln aufgefangen, die mit Hilfe eines Geschirrs dem Tier umgeschnallt wurden. Bei den Kühen wurde auf die Sammlung des Kots verzichtet.
Zur Gewinnung des Harns erhielten die Kühe einen Blasendauerkatheter eingelegt, von dem aus ein Plastikschlauch zu einem 1o l-Kunststoffbehälter (Kuh II 5o l-Kunststoffbehälter) geführt wurde. Der Dauerkatheter entsprach in seinem Aufbau dem eines normalen Katheters, zusätzlich hatte er jedoch, wie die Trachealkanülen, eine aufblasbare bzw. mit Flüssigkeit füllbare Manschette zur Fixierung des Katheters in der Blase. Die Manschette wurde mit Rivanol^{R} (1:2ooo) gefüllt.
Der Katheter bestand aus einem sehr weichen, biegsamen Gummi. Zum Einsetzen des Katheters wurde deshalb zur Versteifung ein gebogener Messingstab in das Katheterlumen eingeführt.
Die Milch wurde nach Versuchsbeginn mit der Hand aus jedem Viertel gesondert ermolken.

d) Aufarbeitung der Kotproben:

In den Kälberversuchen I und II wurde zur Kotaufbereitung die Verbrennungsmethode von KALBERER und RUTSCHMANN (18) angewandt. Nach Trocknung des Kots wurden Proben im Verbrennungskolben verbrannt. Das entstehende Kohlendioxyd wurde in 15 ml gekühlter Methanol-Äthanolamin-Lösung (15 Vol. % Äthanolamin) aufgefangen. 1o ml dieser Lösung wurden zusammen mit 1o ml Szintillator-Flüssigkeit (4 g PPO und 1oo mg Dimethyl-POPOP in 1 l Toluol) in ein Zählfläschchen pipettiert.

Von den Kotproben des Kälberversuchs III wurden etwa 1oo mg Kot in ein Szintillatorfläschchen eingewogen und mit 1 ml Soluene TM 1oo versetzt. Im Trockenschrank blieben die Proben bei etwa 4o - 5o° C solange stehen, bis sich sämtliche Kotbestandteile gelöst hatten. Dann wurden 2o ml Szintillationsflüssigkeit (Zusammensetzung wie oben beschrieben) zugegeben. Es wurden Doppelproben angefertigt, die dreimal gezählt wurden. Die Messung erfolgte in einem Tri-Carb-Flüssigkeit-Szintillationsspektrometer (Packard Modell 314 EX). Die Quench-Korrektur wurde mit Hilfe eines internen Standards vorgenommen (^{14}C-Toluol).

e) Aufarbeitung der Gewebeproben:

Sofort nach Tötung der Tiere wurden die Gewebeproben entnommen, homogenisiert und bei -3o° C eingefroren.
Von den wiederaufgetauten Gewebeproben wurden etwa 1oo mg in Szintillationsfläschchen eingewogen und dann wie bei einem Teil der Kotproben mit 1 ml Soluene versetzt. Die weitere Aufarbeitung entsprach der der Kotproben.

f) Aufarbeitung der Milch:

Die frischgewonnene Milch wurde quantitativ abgemessen und nach der Methode von BLOOM und NELP (74) aufgearbeitet. Folgende Lösungen wurden dabei verwendet:

Lösung A: 1,1 g Hyaminchlorid in 1,o ml Cellosolve
Lösung B: 1,8 g Hyaminchlorid und 1,o ml Cellosolve in 18,o ml Szintillationsflüssigkeit.

Szintillationsflüssigkeit: 16 g PPO und 5o mg POPOP auf 1 l Toluol.

1 ml Milch und 1 ml Lösung A wurden in ein Zählfläschchen pipettiert, mit 15 ml der Lösung B versetzt und geschüttelt. Die Messungen erfolgten in einem neueren Tri-Carb-Flüssigkeit-Szintillationsspektrometer (Modell 3375). Der Quencheffekt wurde durch externe Standardisierung ermittelt.

g) Untersuchung der Ausatmungsluft:

In einem Kälberversuch (Kalb III) wurde ein Teil der Ausatmungsluft durch 2 Waschflaschen mit 3o%iger Natronlauge

und 2 Flaschen mit Isopentan geleitet. Die Waschflaschen wurden gekühlt. In der Absorptionsflüssigkeit wurde die Aktivität bestimmt.

Das Kalb IV wurde an das Exhalations-Meßgerät FHT 5o B der Firma Friesecke und Hoepfner GmbH angeschlossen. Die Atemmaske war aus Glasfiber geformt und besaß für die Frischluftzufuhr zwei Einwegventile. Die Maske war durch einen Faltenschlauch mit dem Gerät verbunden. Um ein durch die Atmung bedingtes stoßweises Eintreten der Expirationsluft in das Exhalometer zu verhindern, befand sich zwischen Maske und Gerät zusätzlich ein mit dem Faltenschlauch in Serie geschalteter Plastiksack. Durch das Ventilsystem war sichergestellt, daß Frischluft zwar angesaugt werden, Ausatmungsluft jedoch nicht entweichen konnte. Pro Stunde wurde vom Meßgerät 1,4 m^3 Luft angesaugt. Ein aliquoter Teil wurde durch die von 3 Methan-Durchflußzählern begrenzten Meßküvetten des Exhalometers zur Bestimmung der ^{14}C-Aktivität gesaugt. Das Gerät integrierte die Aktivität über die Zeit automatisch. Außerdem wurde die Expirationsluft nach Passage des Exhalometers durch konzentrierte Natronlauge geleitet.

h) Aufarbeitung der Harnproben:

Von frischem Harn wurden in Szintillationsfläschchen jeweils 3 ml Harn zu 1o ml Szintillationsflüssigkeit (Zusammensetzung wie bereits unter d) beschrieben) und 1o ml Triton X 1oo (Firma Packard) hinzupepittiert. Die Fläschchen wurden vor der Überführung in den Flüssigkeit-Szintillationsspektrometer gut geschüttelt. Die Doppelproben wurden dreimal gemessen. Zum Teil wurde die Quench-Korrektur mit Hilfe eines internen Standards (^{14}C-Toluol), zum Teil mit externer Standardisierung durchgeführt.

Der Harn wurde auch gaschromatographisch untersucht: Zur Verfügung stand ein Gerät der Firma Pye Unicam (Series 1o4), das mit einem Flammenionisationsdetektor ausgerüstet war. Im folgenden werden Einzelheiten zur gaschromatographischen Bestimmung von DMSO und $DMSO_2$ angegeben:

Säule: Teflonsäule mit einem Innendurchmesser von 6 mm und einer Länge von 2 m

Trägermaterial für die DMSO-Untersuchung: Teflon (Teilchengröße 35 - 6o mesh)

Stationäre Phase: 2% Carbowax 15 M

Trägermaterial für die $DMSO_2$-Untersuchung: Gaschrom Q

Stationäre Phase: 3% Carbowax 15 M

Säulentemperatur:
1oo° C für die DMSO-Bestimmung
12o° C für die $DMSO_2$-Bestimmung

Temperatur des Einspritzblocks:
12o° C für die DMSO-Bestimmung
22o° C für die $DMSO_2$-Bestimmung

Trägergas: nachgereinigter Stickstoff

Durchflußrate: 4o ml/min

Flammenionisationsdetektor:
Wasserstoff: Durchflußrate 4o ml/min
synthet. Luft: Durchflußrate 6oo ml/min

Probenvolumen: 2 Mikroliter

Retentionszeiten: 5,3 min bei der DMSO-Bestimmung
7,o min bei der $DMSO_2$-Bestimmung.

Bei der gaschromatographischen Untersuchung wurde folgendermaßen vorgegangen:
Die Säule wurde etwa 24 Stunden lang bei einer Temperatur ausgeheizt, die ungefähr 8o° höher lag als die Arbeitstemperatur. Die Gasdurchflußraten wurden wöchentlich zweimal überprüft. Standardmengen von DMSO und $DMSO_2$ in wässriger Lösung wurden in Konzentrationen hergestellt, die etwa denen der zu untersuchenden Proben entsprachen. Der Harn wurde nicht aufbereitet. Vor und nach jeder Probenuntersuchung wurden die Standards

injiziert. Standards und Proben wurden jeweils drei- bis vierfach bestimmt. Die Chromatogrammpeaks wurden mit Hilfe der beiden Wendetangenten und der Basislinie zu Dreiecken umkonstruiert. Die Fläche berechnet sich nach der Formel halbe Basislinie mal Höhe. "Ausreißer" wurden bei Mehrfachbestimmungen mit dem Q-Test (KAISER, 36) ermittelt.

$$Q = \frac{x_2 - x_1}{w}$$

w = größter - kleinster Wert
x_2 = größter Wert bzw. kleinster Wert
x_1 = nächst kleinerer Wert bzw. nächstgrößerer Wert.

Ist der Q-Wert gleich oder größer als der Wert für Q 9o (KAISER, 36), so handelt es sich bei dem verdächtigen Wert mit 9o%iger Sicherheit um einen Ausreißer. Dieser Wert blieb bei Errechnung des Mittelwertes unberücksichtigt. Aus dem Flächenvergleich Probe zu Standard errechnet sich die Menge DMSO bzw. $DMSO_2$.

Zur Überprüfung der Sauberkeit der Spritze wurde nach jeder Probe, sei es Standard oder Harnprobe, Aqua dest. injiziert. Waren Verunreinigungen nachweisbar, so wurde die Spritze mit verschiedenen Lösungsmitteln gereinigt. Es kamen folgende Spritzen zur Anwendung: Microject der Firma Serva Feinbiochemica GmbH & Co. sowie Spritzen der Firma Hamilton und Precision Sampling Corp.

3. Versuchsdurchführung und Ergebnisse:

a) Kälberversuch I:

Bei den ersten beiden Kälbern wurde das ^{14}C-DMSO cutan appliziert. Mit Hilfe eines Pinsels wurde dem männlichen, etwa 65 kg schweren Mastkalb I (Grauvieh) auf die geschorenen Innen- und Außenflächen beider Hinterschenkel 2o ml ^{14}C-DMSO (377 µ Ci) aufgetragen. Dabei tropfte allerdings ein Teil des DMSO ab und ging verloren, so daß die genaue Dosierung nicht bekannt ist. 17 Tage lang wurden anschließend Kot und Harn gesammelt. Danach wurde das Kalb getötet und Gewebeproben folgender Organe entnommen:

Oberschenkelmuskulatur, Brustmuskulatur,
Milz, Niere, Leber, Gehirn.

Ergebnisse:

In keinem der Organe konnte ^{14}C-Restaktivität nachgewiesen werden.
Die Aktivitätsausscheidung im Harn erstreckte sich etwa auf 14 - 15 Tage. Die maximale Aktivität wurde bereits nach 6 Stunden gemessen. Daraus errechnen sich 639 mg "DMSO"/l Harn. Dieser Umrechnungswert ist jedoch lediglich ein fiktiver Wert, da auch DMSO-Metaboliten bei der Aktivitätsbestimmung miterfaßt werden.
Insgesamt wurden über den Harn 11,25% der applizierten ^{14}C-Aktivität ausgeschieden. In den ersten 5 Tagen wurden 87% der insgesamt im Harn erschienen Aktivität eliminiert. Im Kot konnte nur wenig Aktivität nachgewiesen werden. Die Wiederauffindungsrate im Kot betrug o,o7% der applizierten Aktivität.
Am ersten Versuchstag war, wie auch in den anderen Versuchen nach DMSO-Verabreichung, ein intensiver Geruch nach DMS im Versuchsstall wahrnehmbar.
Die folgende Abbildung 1 zeigt den zeitlichen Verlauf der ^{14}C-Ausscheidung über den Harn.
In Abbildung 2 wird der Zeitverlauf der aus der ^{14}C-Aktivität errechneten "DMSO"-Konzentration des Harns veranschaulicht.

Abb. 1 : ^{14}C-Ausscheidung im Harn eines Kalbs nach vorangegangener cutaner ^{14}C-DMSO-Applikation. (377 µCi in 20 ml DMSO, Verluste bei der Applikation)

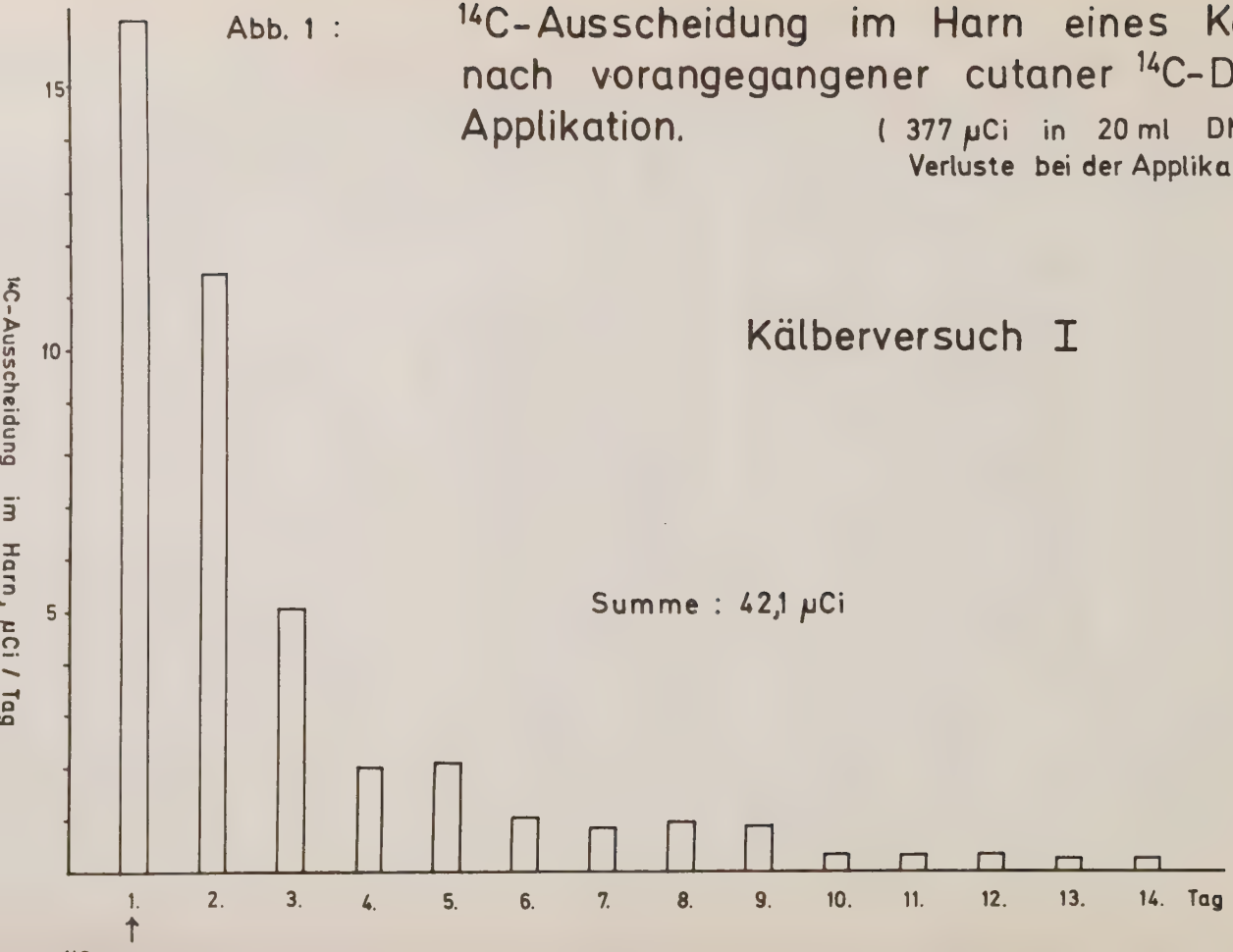
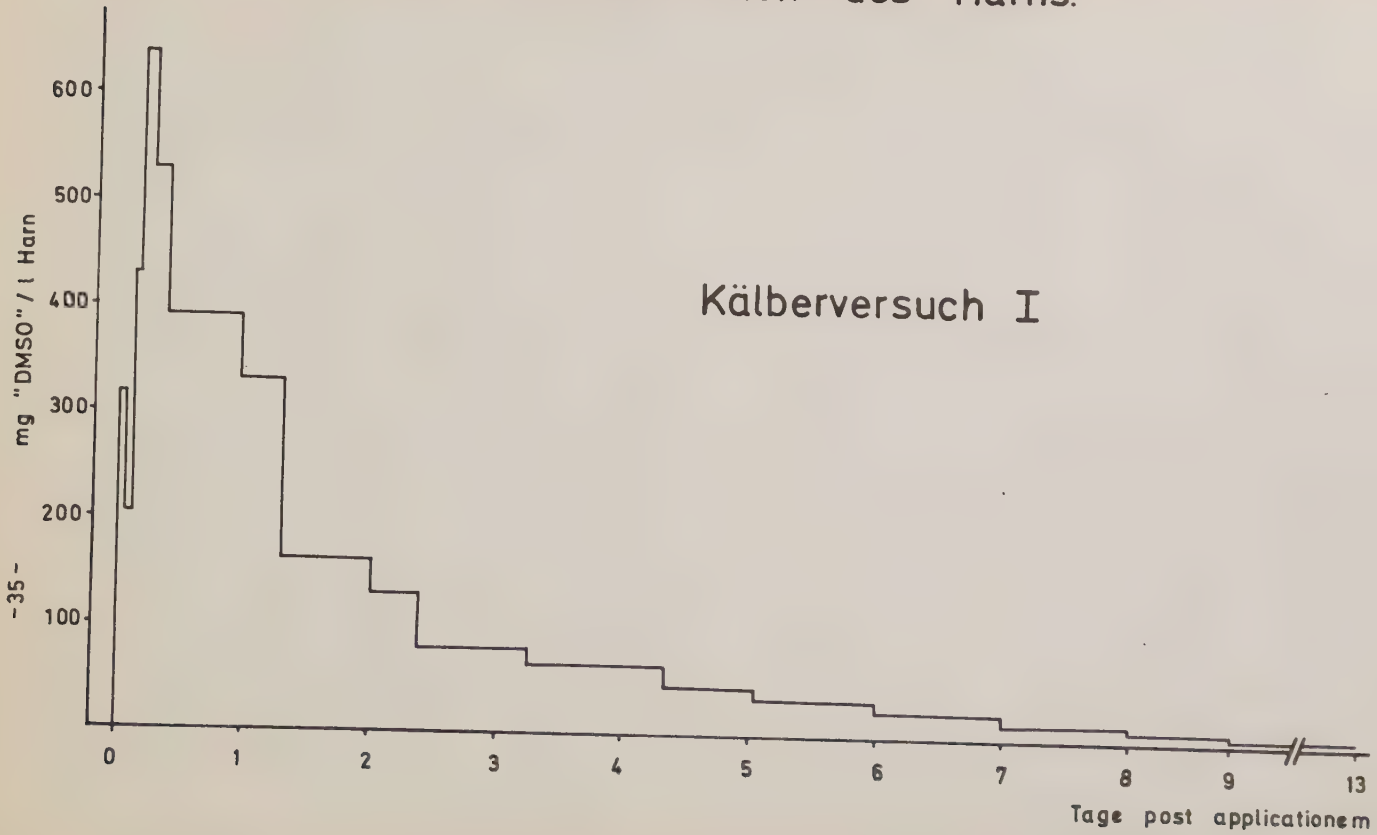


Abb. 2 : Aus der ^{14}C-Aktivität errechnete "DMSO"-Konzentration des Harns.



b) Kälberversuch II:

Bei diesem Versuch wurde nicht nur DMSO appliziert, sondern es wurde auch untersucht, inwieweit eine Methionin-Verabreichung die $DMSO_2$-Ausscheidung im Harn beeinflußt.

Für den Versuch stand ein ca. 6o kg schweres männliches Mastkalb (Grauvieh) zur Verfügung. Zunächst wurde einige Tage lang der Harn zur Basalpegelbestimmung des endogenen $DMSO_2$ gesammelt. $DMSO_2$ gehört nämlich, wie im Literaturteil bereits erwähnt, zu den normalen Harnbestandteilen. Dann bekam das Tier 5o g DL-Methionin in 4 l Milchaustauschertränke verabreicht. Nachdem die vorübergehend aufgetretene $DMSO_2$-Ausscheidung wieder zurückgegangen war, wurden schließlich 5 ml ^{14}C-DMSO (29,7 µ Ci) cutan verabreicht. Um dieses Mal Verluste durch Abtropfen von DMSO zu vermeiden, wurde dem Tier ein Gummitrichter auf den geschorenen rechten Hinterschenkel geklebt. Die Auftragungsfläche betrug 2o cm^2. 19 Tage lang wurden Harn und Kot gesammelt.

Ergebnisse:

Der Nullpegel der $DMSO_2$-Ausscheidung im Harn betrug durchschnittlich 8,5 mg/l. Dies entspricht einer Tagesausscheidung von 25 mg $DMSO_2$. Nach der Methionin-Verabreichung stieg die $DMSO_2$-Konzentration an, um am dritten Tage das Maximum mit 47,5 mg $DMSO_2$/l Harn (2oo mg $DMSO_2$/Tag) zu erreichen (s. Abb. 3 und 4). Nach 1o Tagen betrug die Ausscheidung immer noch 75 mg/Tag (s. Abb. 4).
Die Resorption des cutan aufgetragenen DMSO dauerte etwa 8 - 1o Stunden.
Der Verlauf der $DMSO_2$-Ausscheidung nach DMSO-Applikation ist ebenfalls den Abbildungen 3 und 4 zu entnehmen.
Nach 2 Tagen wurde im Harn die maximale Menge (412 mg/Tag) an $DMSO_2$ ausgeschieden. Selbst nach 16 Tagen war der $DMSO_2$-Nullpegel noch nicht erreicht.
Bei der Wiederauffindung der Aktivität im Harn, ergab sich für den zweiten Tag nach der Applikation der Maximalwert

Abb. 3: Dimethylsulfongehalt des Harns eines männlichen Mastkalbes. (mg $DMSO_2$/l)

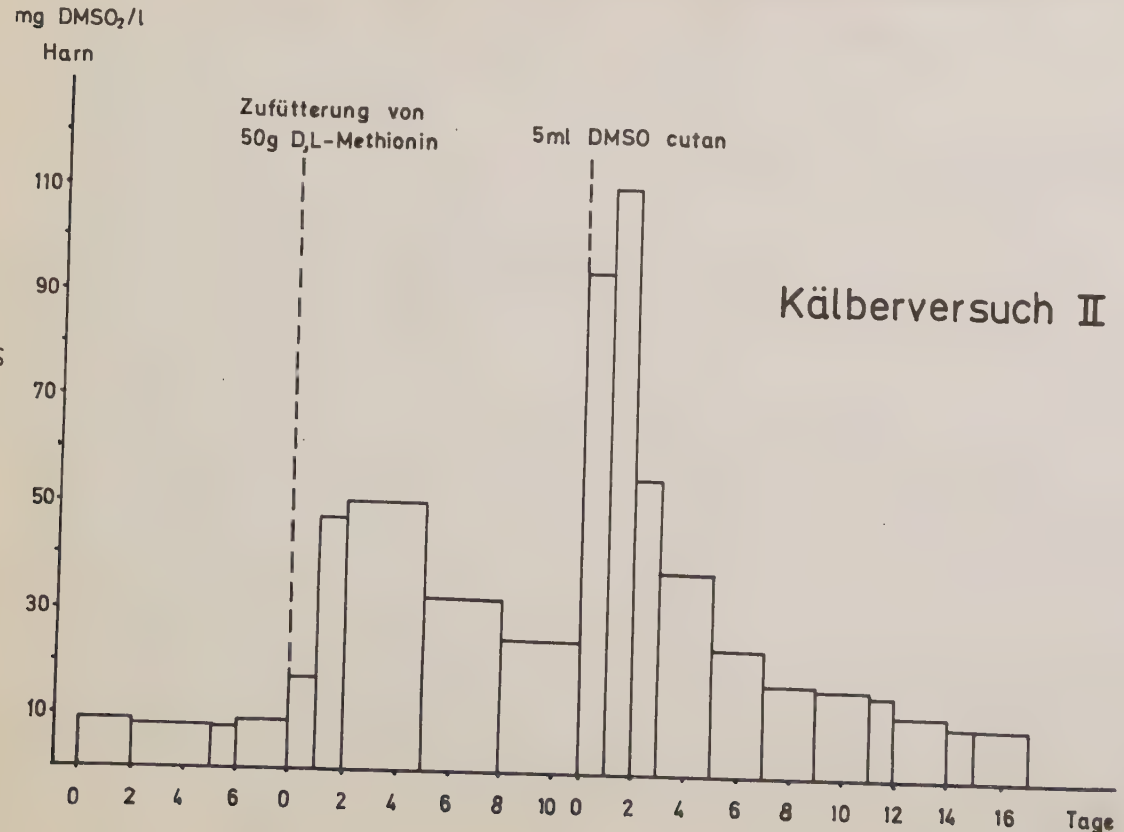
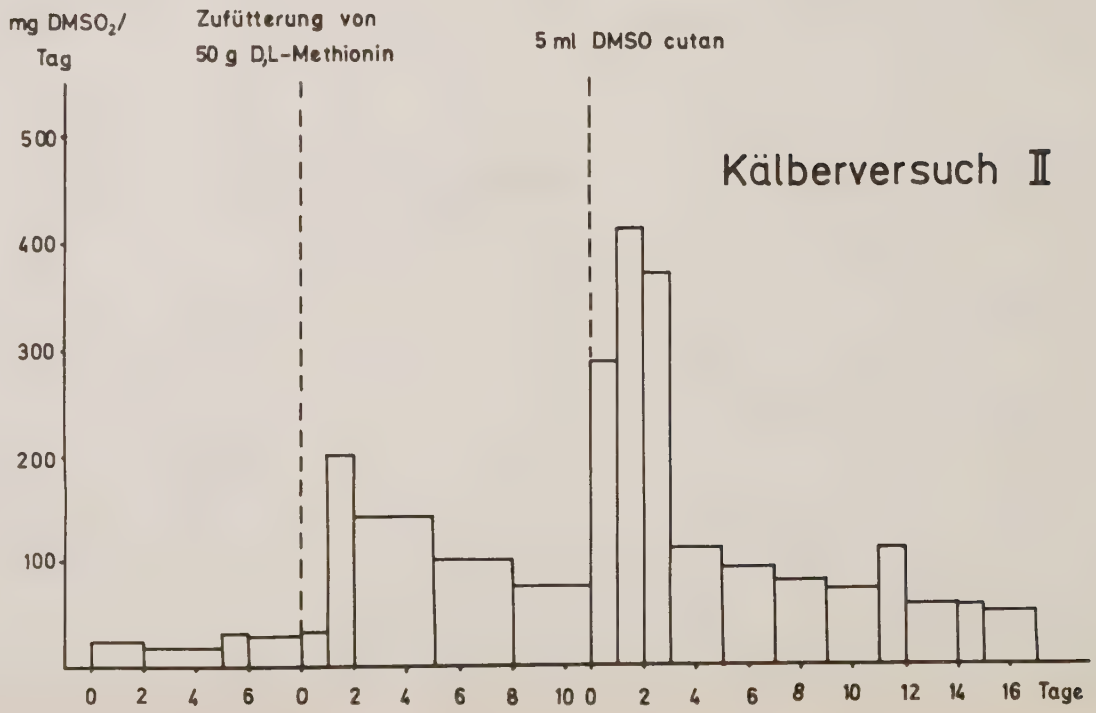


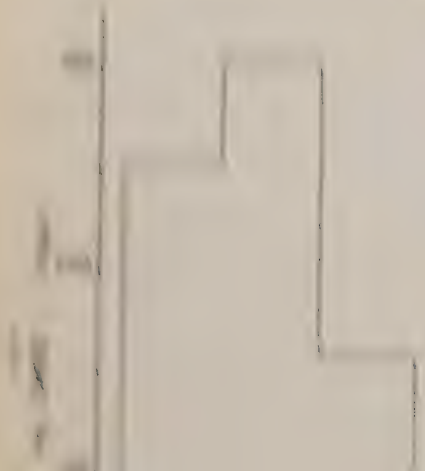
Abb. 4 : Dimethylsulfon - Ausscheidung im Harn eines Kalbes. (Tagesausscheidung.)



(umgerechnet 299 mg "DMSO"/l Harn). Noch am 16. - 17. Tag wurden geringe Anteile der applizierten ^{14}C-Aktivität ausgeschieden. Nach 5 Tagen betrug die ^{14}C-Ausscheidung im Harn 80% der insgesamt über den Harn eliminierten ^{14}C-Aktivität. Über die Niere wurden insgesamt 57,75%, über den Kot dagegen nur 0,78% der verabreichten ^{14}C-Dosis ausgeschieden. In Abbildung 5 ist der Verlauf der Aktivitätsausscheidung im Harn dargestellt.

In Abbildung 6 sind die Aktivitätswerte in mg "DMSO"/l Harn umgerechnet. Dabei wird, wie bereits erwähnt, von der unzutreffenden Annahme ausgegangen, daß die ^{14}C-Aktivität des Harns nur an DMSO gebunden ist.

Abb. 8: Aus der [H] Aktivität errechnete [DNA] Konzentration des Harns



Hühnerversuch II

c) Kälberversuch III:

Bei einem etwa 5o kg schweren männlichen Höhenfleckvieh-kalb wurden 1o ml ^{14}C-markiertes DMSO (116,4 µ Ci) subcutan an der linken Halsseite injiziert. Harn und Kot wurden 2o Tage lang nach der Applikation gesammelt, zunächst in 2 Stunden-Abständen, dann in 3 Stunden-Intervallen und schließlich zweimal täglich. Der Kot wurde über die ganze Versuchsdauer zweimal täglich entnommen. Die Expirationsluft wurde, wie im methodischen Teil beschrieben, zweimal täglich - jeweils etwa 15 Minuten lang - durch die Gasfallen geleitet. Nach Versuchsende wurde das Tier getötet. Es wurden folgende Organe entnommen:

Herz, Blut, Leber, Muskel (Vorder- und Hinterviertel), Gehirn, Milz, Niere, Lunge, Nierenkapselfett, Gekrösefett, Subcutanfett.

Ergebnisse:

Das Maximum der Aktivitätausscheidung im Harn war nach 8 Stunden erreicht. Nach etwa 17 Tagen wurde keine ^{14}C-Restaktivität mehr ausgeschieden. Der Ausscheidungsverlauf der ^{14}C-Aktivität im Harn ist in Abbildung 7 wiedergegeben. 5 Tage nach der subcutanen Injektion waren bereits 96,6% der insgesamt im Harn ausgeschiedenen Aktivität eliminiert. Die aus der Aktivität errechnete maximale "DMSO"-Konzentration betrug über 16oo mg/l Harn (Abb. 8). Bei der gaschromatographischen Untersuchung lag die maximale Konzentration 8 - 1o Stunden nach der Verabreichung jedoch nur bei 1o27 mg DMSO/l Harn. Die DMSO-Ausscheidung war nach 28 Stunden praktisch abgeschlossen.
Das Kalb schied täglich etwa 4 l Harn aus. Der Nullpegel der $DMSO_2$-Konzentration belief sich auf 6 mg $DMSO_2$/l Harn. Dies entspricht einer durchschnittlichen Tagesausscheidung von 24 mg $DMSO_2$. Die $DMSO_2$-Konzentration lag nach der DMSO-Verabreichung etwa 13 Tage lang über dem Basalpegel. Die Maximalkonzentration war nach 4o Stunden erreicht.
Der zeitliche Verlauf der DMSO und $DMSO_2$-Ausscheidung ist in den Abbildungen 9 und 1o dargestellt.

Abb. 7: Ausscheidung der ^{14}C-Aktivität im Harn nach vorangegangener subcutaner Applikation.

(116,4 µCi in 10ml DMSO)

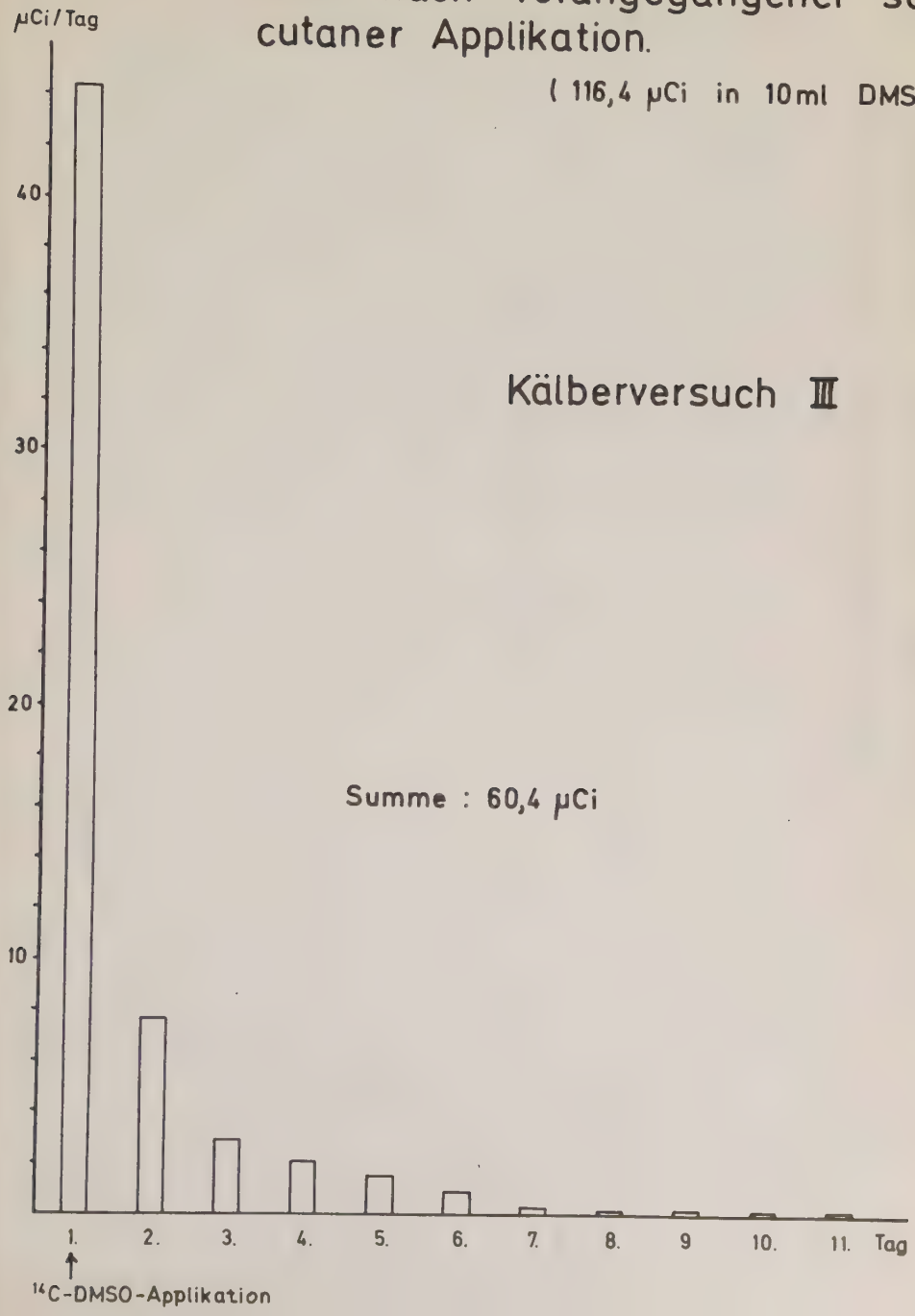
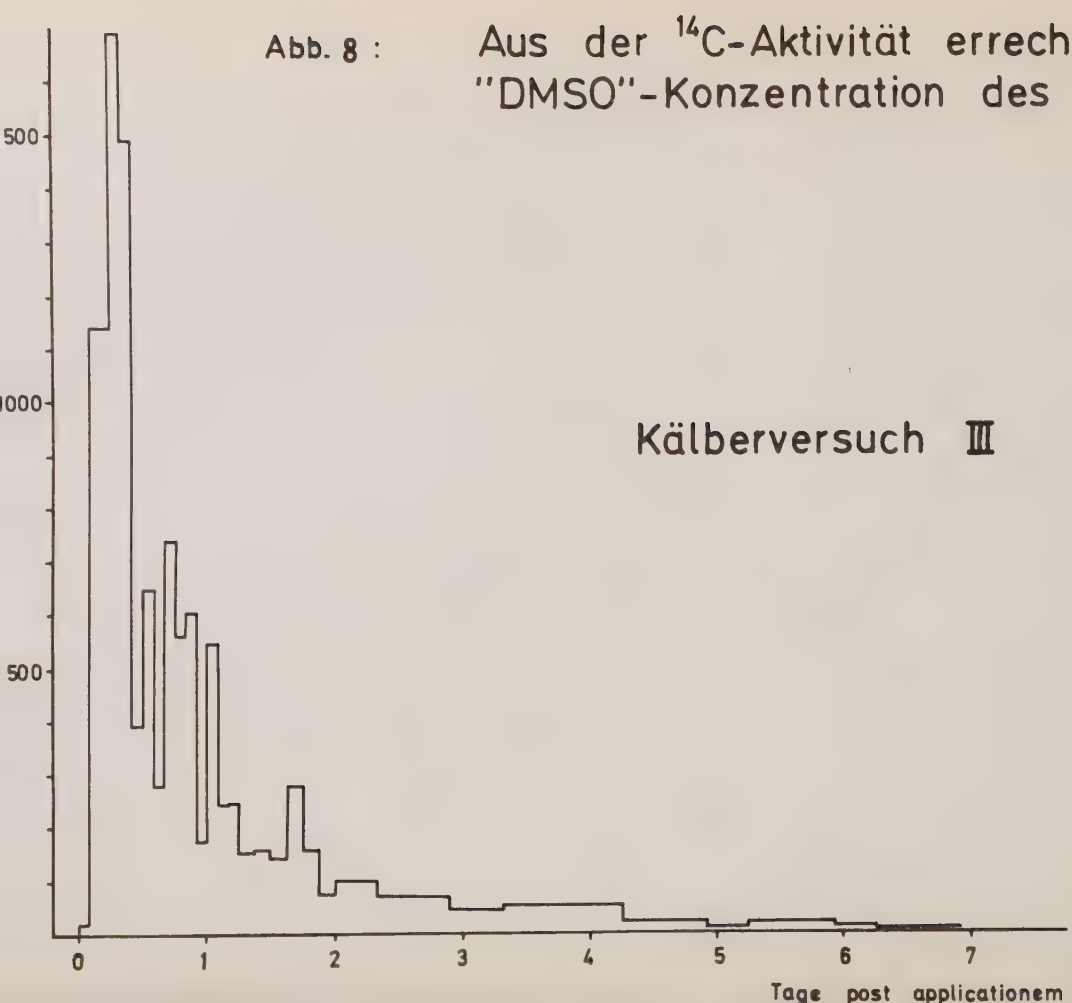


Abb. 8 : Aus der ^{14}C-Aktivität errechnete "DMSO"-Konzentration des Harns.



Kälberversuch III

Im Harn wurden 29% der Dosis als DMSO und 1o% als $DMSO_2$ ausgeschieden. Mit einer Wiederauffindungsrate von 39% lag der gaschromatographische Wert unter dem aus der ^{14}C-Aktivität erhaltenen Wert (53%).
In den Gewebeproben konnte lediglich im Gekrösefett und Subcutanfett ^{14}C-Aktivität fast in Höhe der doppelten Nullrate gemessen werden. Alle anderen Organproben wiesen keine ^{14}C-Restaktivität auf.
Im Kot wurden o,o2% der verabreichten ^{14}C-Aktivität wiedergefunden. Das Ausscheidungsmaximum im Kot wurde am dritten Tag registriert. 6 Tage nach der Applikation lagen die Aktivitätswerte nicht mehr über der Nullrate.
Im Isopentan, durch das die Expirationsluft geleitet wurde, war Radioaktivität nachweisbar, nicht jedoch in der anderen Absorptionsflüssigkeit (Natronlauge). Am ersten Tag wurde, wie bereits erwähnt, ein intensiver Geruch nach DMS (knoblauchartiger Geruch) im Stall festgestellt.

Abb. 9 : DMSO-und $DMSO_2$-Ausscheidung im Harn eines Kalbes nach vorausgegangener subcutaner DMSO-Applikation.

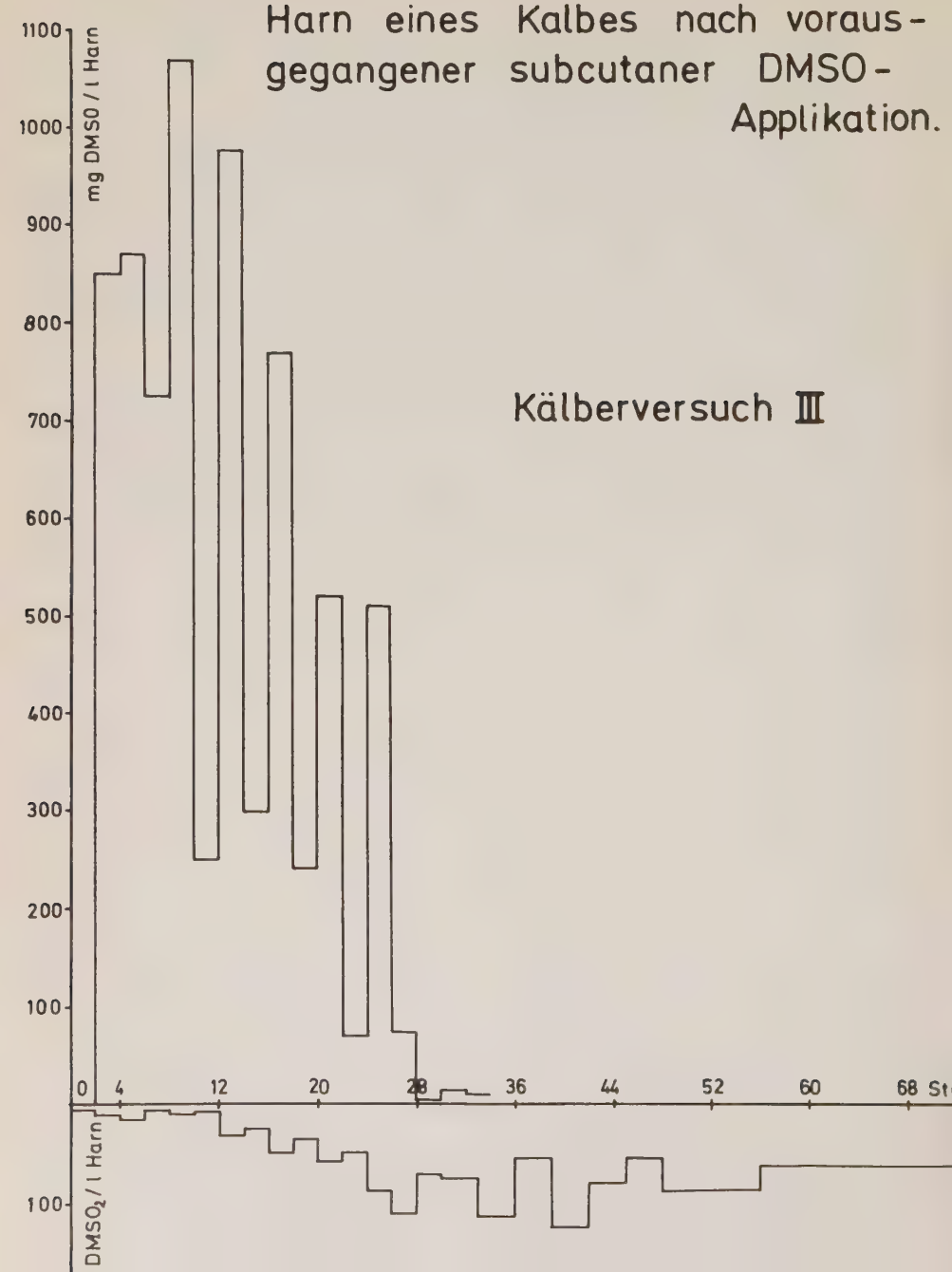
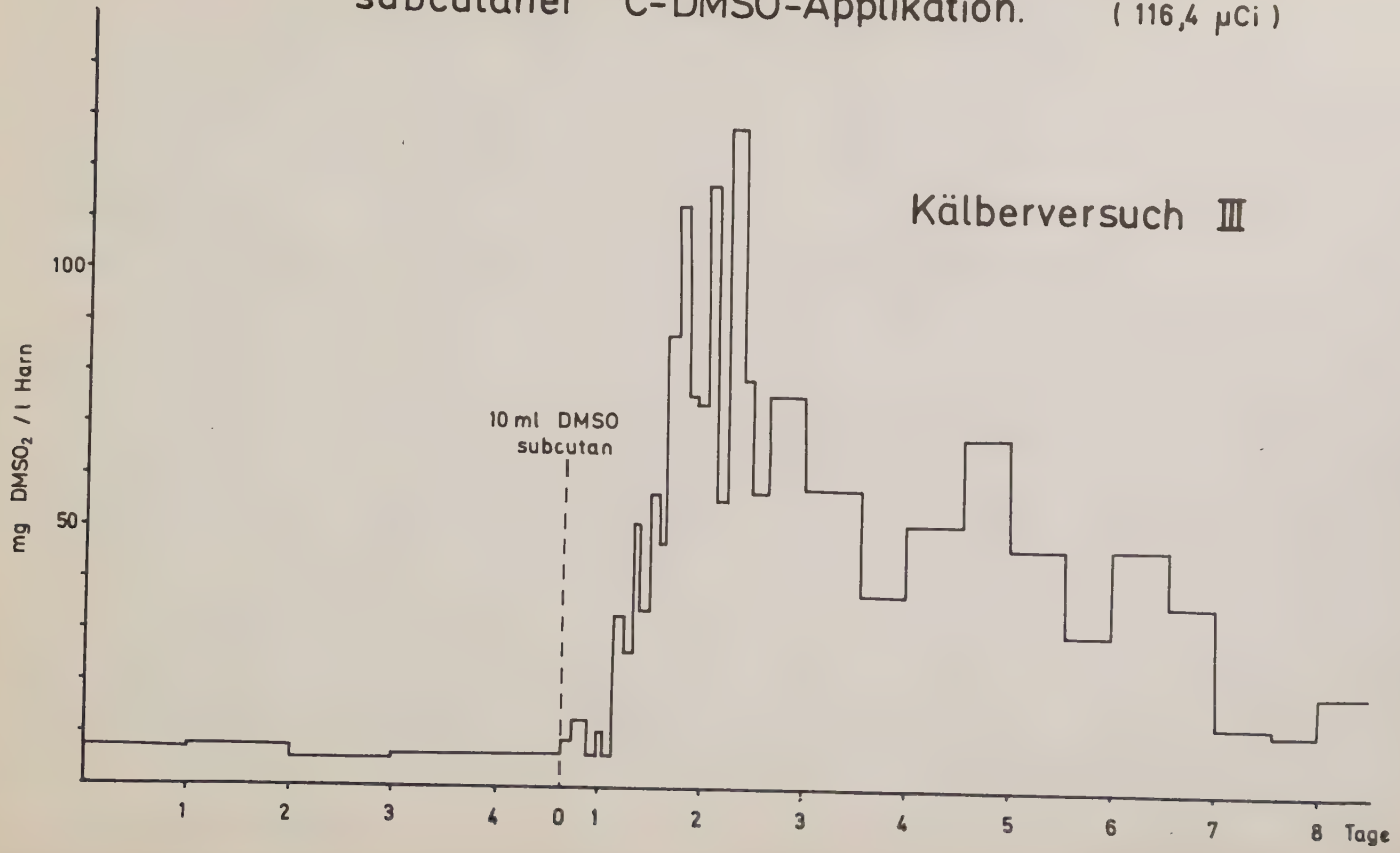


Abb. 10 : $DMSO_2$ -Ausscheidung nach vorausgegangener subcutaner ^{14}C-DMSO-Applikation. (116,4 µCi)



d) Kälberversuch IV:

Bei diesem Kalb handelte es sich um ein etwa 65 kg schweres männliches Grauviehkalb.
In zwei Depots an der linken und rechten Halsseite wurden insgesamt 8,5 ml ^{14}C-DMSO (55,7 µ Ci) subcutan injiziert. Neben der Untersuchung der Expirationsluft mit dem Exhalometer wurde zur Ermittlung der ^{14}C-Aktivität im Harn der Harn quantitativ gesammelt.

Ergebnisse:

Zwanzig Stunden lang trat in der Ausatmungsluft Radioaktivität auf. Das Ausscheidungsmaximum wurde 4 - 5 Stunden nach der Applikation erreicht (Abb. 11). Insgesamt schied das Kalb 72,4% der verabreichten ^{14}C-Aktivität über die Ausatmungsluft aus, im Harn jedoch nur 15,2% der Dosis.

Die Aktivität im Harn lag etwa 8 Tage lang nach der Verabreichung über der Nullrate (Abb. 12). Der Maximalwert wurde nach 6 Stunden gemessen (umgerechnet: 3o2 mg "DMSO"/l Harn). Fünf Tage nach der ^{14}C-DMSO-Verabreichung waren 92% der im Harn insgesamt ausgeschiedenen ^{14}C-Aktivität eliminiert.

Die Aktivitätsausscheidung im Kot wurde nicht bestimmt.

Über die Niere und Lunge wurden also insgesamt 87,6% der ^{14}C-Aktivität ausgeschieden.
In der Absorptionsflüssigkeit (Natronlauge) konnte keine Restaktivität nachgewiesen werden. Auch in diesem Fall war in den ersten Stunden nach der DMSO-Verabreichung der knoblauchartige Geruch in der Expirationsluft stark ausgeprägt.

Abb. 11 : ^{14}C-Ausscheidung über die Exspirationsluft bei einem Kalb nach vorausgegangener subcutaner ^{14}C-DMSO-Applikation. (55,7 µCi in 8,5 ml DMSO)

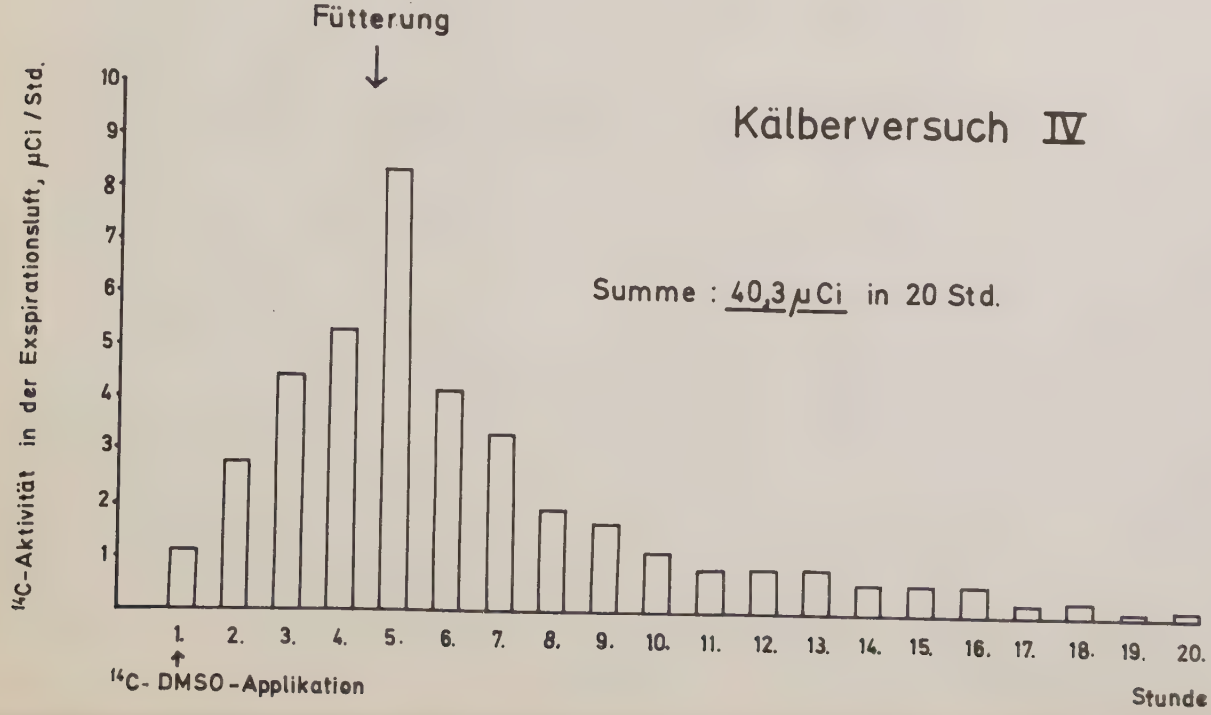
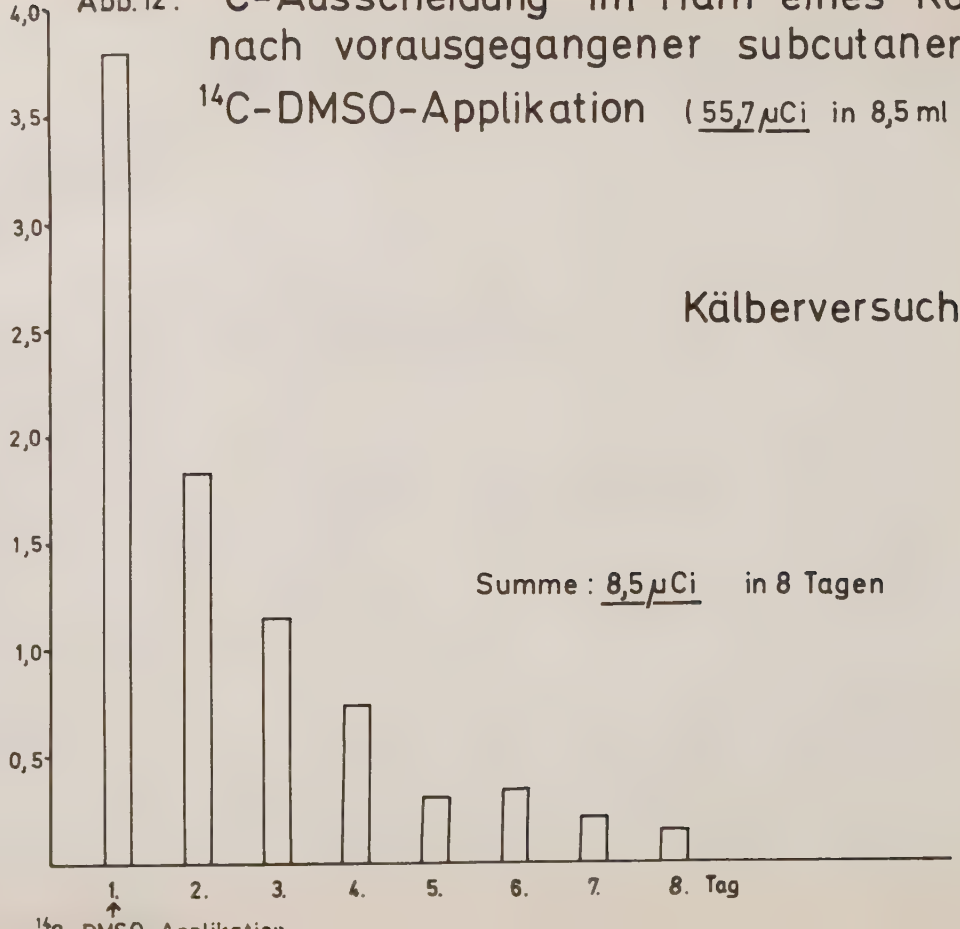


Abb. 12: ^{14}C-Ausscheidung im Harn eines Kalbes nach vorausgegangener subcutaner ^{14}C-DMSO-Applikation (55,7 µCi in 8,5 ml DMSO)



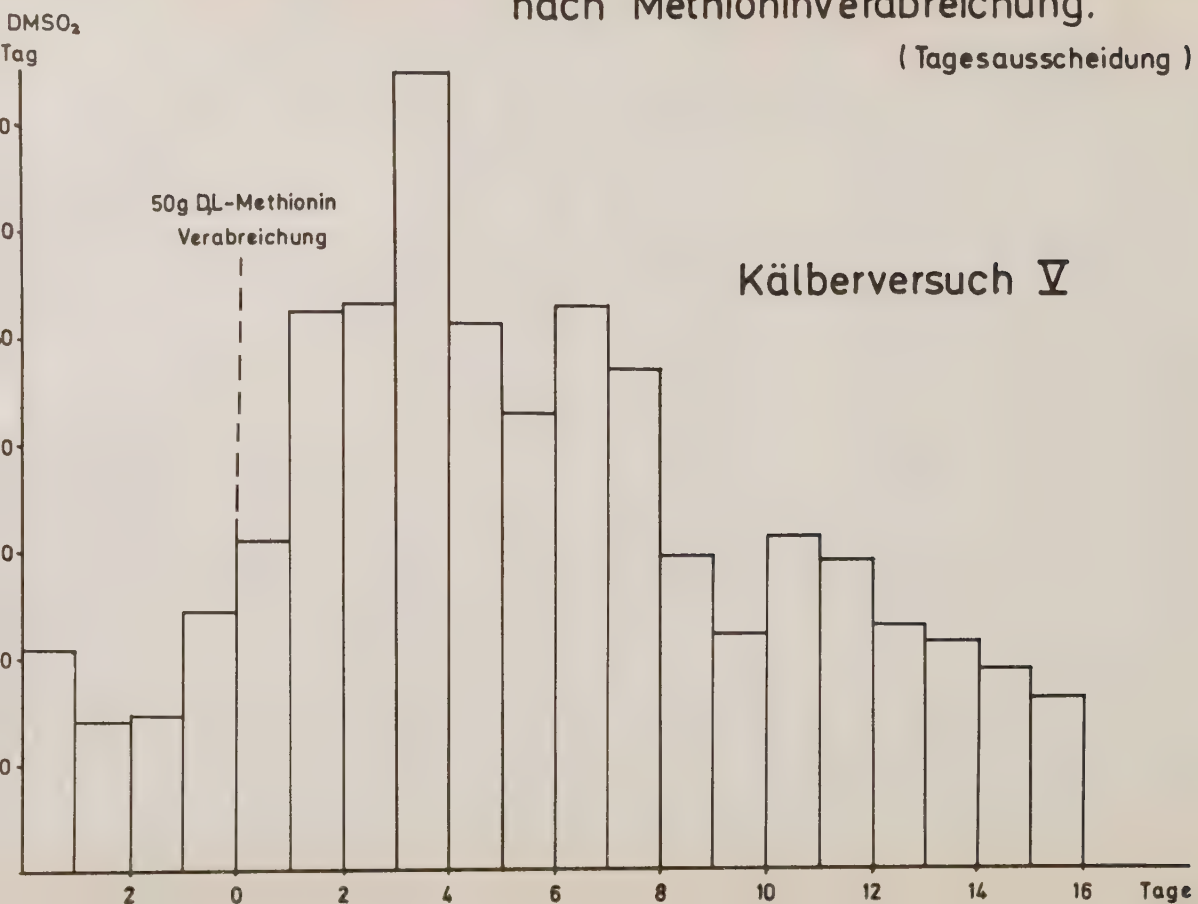
e) Kälberversuch V:

Das männliche, etwa 65 kg schwere Kalb (Grauvieh) wurde, wie die anderen Kälber, in einem Stoffwechselkäfig gehalten. Während der Eingewöhnungszeit von einigen Tagen wurde täglich die Harnmenge gemessen und Proben davon bei -3o° C eingefroren.
Nach 7 Tagen wurde dem Kalb mit einer Magensonde 5o g DL-Methionin verabreicht.
Es sei noch einmal darauf hingewiesen, daß dieses Kalb mit Heu und nicht mit Milchaustauschertränke gefüttert wurde.
21 Tage lang wurde der Harn gesammelt, die Harnmenge gemessen und Proben zur späteren gaschromatographischen Untersuchung eingefroren. Es wurde der $DMSO_2$-Gehalt im Harn bestimmt.

Ergebnisse:

Das Kalb schied vor der Methionin-Verabreichung im Harn 2o mg $DMSO_2$/Tag aus. Die Konzentration betrug 28 mg/l. Am vierten Tag nach der Methioningabe wurde mit 79 mg $DMSO_2$/l Harn die maximale Konzentration erreicht (75 mg $DMSO_2$/Tag).
Wegen der Schwankungen des Basalpegels von $DMSO_2$ ist die Dauer der Ausscheidung nach der Methionin-Verabreichung nicht genau anzugeben. Sie betrug etwa 9 - 12 Tage.
In der Abbildung 12a ist der Verlauf der $DMSO_2$-Ausscheidung in Abhängigkeit von der Zeit nach der Methioninverabreichung aufgezeigt.

Abb.12a : Dimethylsulfon-Ausscheidung im Harn eines Kalbes nach Methioninverabreichung.



f) Kuhversuch I:

Auch die Kühe konnten sich einige Tage im Versuchsstall eingewöhnen. Für den ersten Versuch wurde eine 3 1/2-jährige, 5 Monate trächtige, schwarzbunte Kuh mit einer Milchleistung von 1o l/Tag und einem Gewicht von etwa 55o kg verwendet.
Ins vordere rechte Euterviertel wurden 15 ml 6o%iges ^{14}C-DMSO (155,3 µ Ci) intrazisternal instilliert.
In den folgenden 12 Stunden wurde in 2 Stunden-Intervallen, dann bis zur 36. Stunde in 6-stündigen Abständen und anschließend alle 12 Stunden gemolken.
Der Harn wurde in denselben Zeitabständen gesammelt.
Die Versuchsdauer betrug 12 Tage.
In der Milch und im Harn wurde die ^{14}C-Aktivität bestimmt.
Außerdem wurde der Harn gaschromatographisch auf DMSO und $DMSO_2$ untersucht.

Ergebnisse:

Die Aktivitätsausscheidung im Harn war im wesentlichen nach 11 Tagen abgeschlossen. Der maximale Aktivitätswert war bereits nach 2 - 4 Stunden erreicht (umgerechnet 611 mg "DMSO"/l Harn; gaschromatographisch ermittelt: 462 mg DMSO/l Harn und 164 mg $DMSO_2$/l Harn).
Der Maximalwert für die Aktivitätsausscheidung fällt zeitlich mit der maximalen DMSO-Konzentration im Harn zusammen. Abbildung 13 informiert über die Aktivitätsausscheidung im Harn. In Abbildung 14 sind die Aktivitätswerte in mg "DMSO"/l Harn ausgedrückt.
In 3 Tagen wurden 84% der gesamten im Harn erschienenen ^{14}C-Aktivität ausgeschieden, in 5 Tagen 96%.
Insgesamt fanden sich 44,6% der Dosis im Harn wieder.
Die gaschromatographische Wiederauffindungsrate betrug nur 35,2%; davon 8,7% DMSO und 26,5% $DMSO_2$.
Die DMSO-Ausscheidung dauerte nur 12 Stunden (Abb. 15).
Die maximale $DMSO_2$-Konzentration im Harn war nach 8 - 1o Stunden erreicht. Der Basalpegel der $DMSO_2$-Ausscheidung betrug 23 mg/l Harn. Dies entspricht bei einer durch-

Abb. 13: ^{14}C-Ausscheidung im Harn einer Kuh nach vorausgegangener intrazisternaler ^{14}C-DMSO-Applikation. (155,3 µCi in 15 ml 60%igem DMSO)

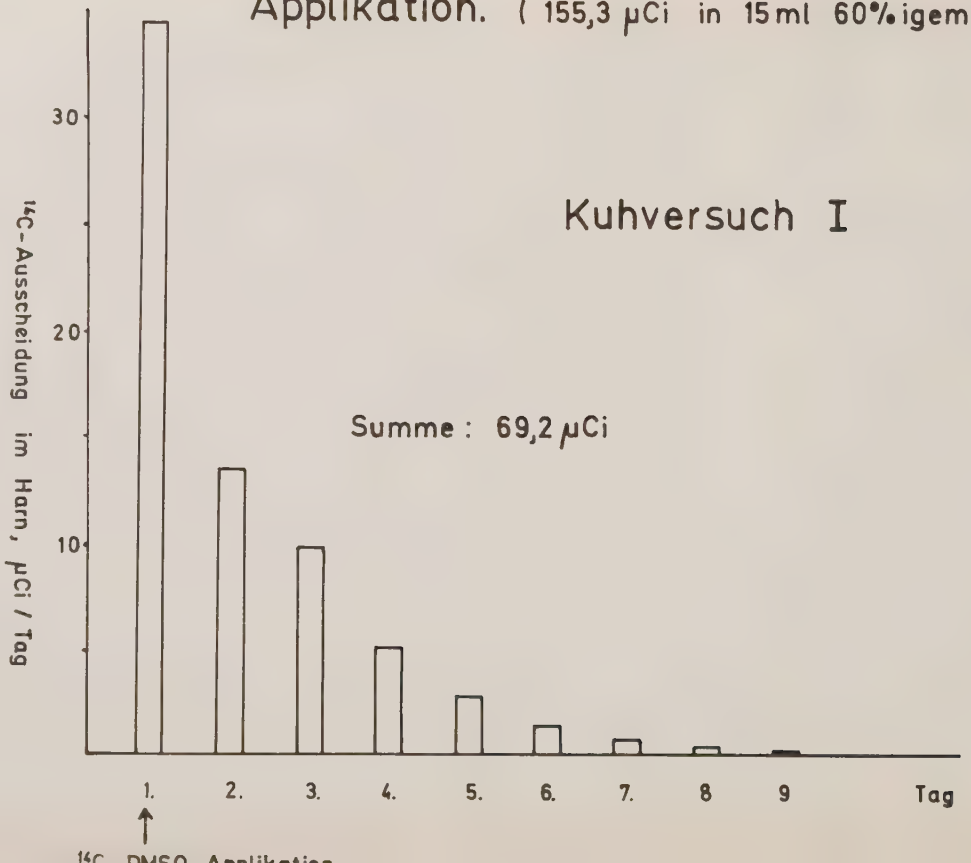


Abb. 14 : Aus der ^{14}C-Aktivität errechneter "DMSO"-Gehalt des Harns einer Kuh nach vorausgegangener intrazisternaler ^{14}C-DMSO-Applikation.

(155,3 µCi in 15ml 60%igem DMSO)

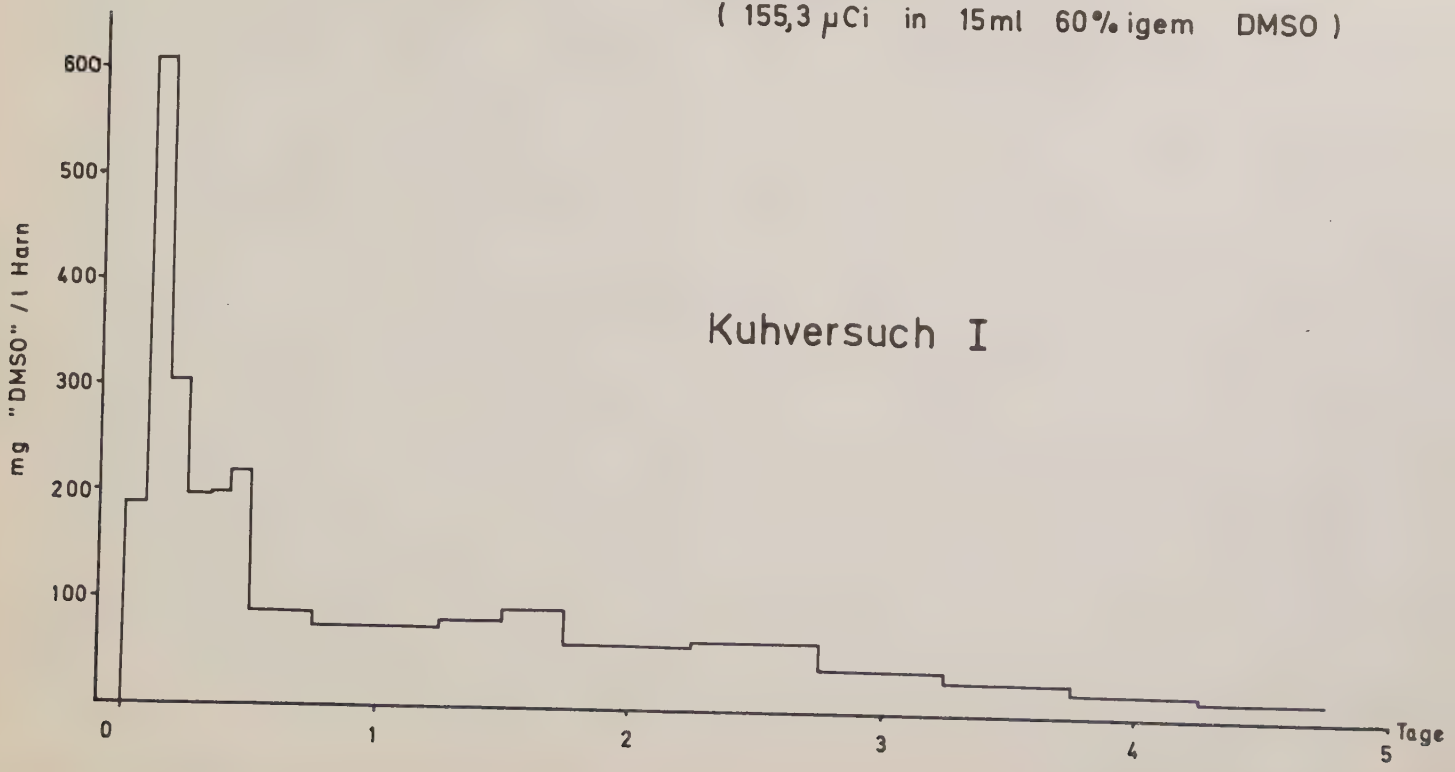
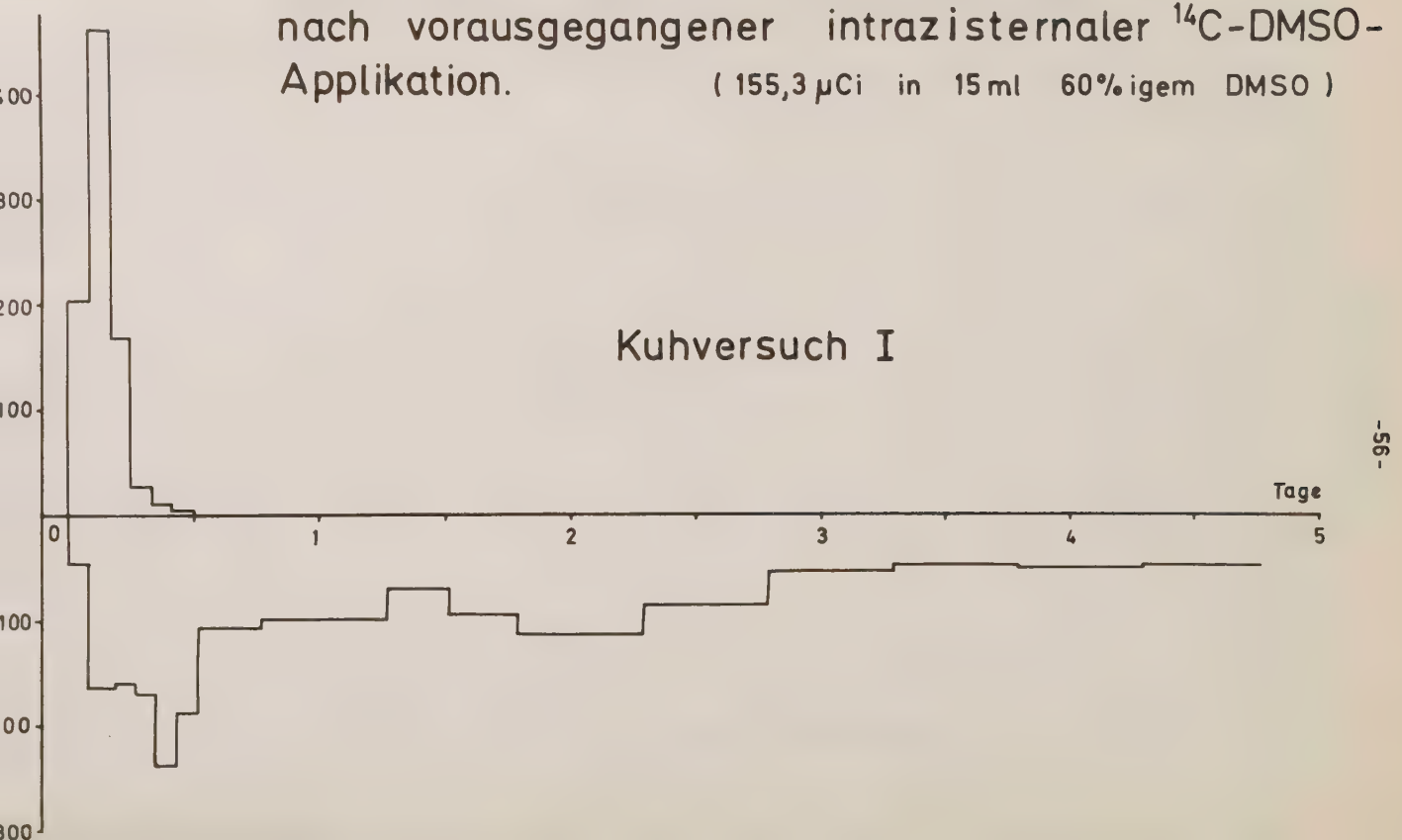


Abb. 15 : DMSO-und $DMSO_2$ -Gehalt des Harns einer Kuh nach vorausgegangener intrazisternaler ^{14}C-DMSO-Applikation. (155,3 µCi in 15 ml 60%igem DMSO)



schnittlichen Tagesharnmenge von 12 Liter 276 mg $DMSO_2$/Tag. Fünf Tage nach der Applikation war dieser Nullpegel in etwa wieder zu beobachten (Abb. 15).

Bei der Untersuchung der Milch fiel auf, daß 2 bzw. 4 Stunden nach der Instillation ins vordere rechte Euterviertel die Aktivität in der Milch aus diesem Viertel um ein Vielfaches höher lag als in der Milch der anderen Viertel. Sechs Stunden nach der Applikation waren die Aktivitätswerte der Milchproben aller Viertel praktisch identisch (Tabelle 1).
In der Milch wurden 6,86% der applizierten ^{14}C-Aktivität ausgeschieden. Davon entfielen allerdings 3,92% auf Proben, die 2 bzw. 4 Stunden nach der Verabreichung aus dem vorderen rechten Euterviertel ermolken wurden.
In der nachfolgenden Tabelle 1 wird die Aktivität in "DMSO" ausgedrückt. In Analogie zur Harnausscheidung dürfte aber wahrscheinlich nur anfänglich DMSO eliminiert worden sein, während später nur $DMSO_2$ ausgeschieden worden sein dürfte. Dieses ist, wie bereits im Literaturteil beschrieben, ein natürlicher Bestandteil der Milch.

Tabelle 1:
Aus der ^{14}C-Aktivität errechnete "DMSO"-Konzentrationen der Milch (Kuhversuch I)

Zeit nach der ^{14}C-DMSO-Appl.	"DMSO"-Konzentration mg/l			
	vr.	vl.	hr.	hl.
2 Stunden	4500,0	17,3	25,9	18,3
4 "	142,5	16,8	19,2	15,0
6 "	13,3	12,9	8,9	12,0
18 "	10,0	10,0	8,9	1,7
36 "	7,7	7,6	6,9	8,0
3 Tage	3,3	2,8	3,3	3,4
5 " S		1,0		

vr = vorne rechts (Euterviertel)
vl = vorne links
hr = hinten rechts
hl = hinten links
S = Sammelgemelk aus allen Eutervierteln

g) Kuhversuch II:

Es handelte sich um eine frischlaktierende, schwarzbunte, etwa 3 Jahre alte Kuh mit einer Milchleistung von 16 l/Tag. 15 ml 6o%iges ^{14}C-DMSO (16o,7 µ Ci) wurden wie im Kuhversuch I ins vordere rechte Euterviertel instilliert. Die Melkintervalle betrugen durchgehend 12 Stunden.
Die Harnproben wurden über einen Zeitraum von 1o Stunden alle 2 Stunden gesammelt, dann zweimal in 6 Stunden-Abständen und schließlich in 12 Stunden-Intervallen.

Ergebnisse:

Die Aktivitätsausscheidung im Harn erstreckte sich über annähernd 1o Tage. Doch bereits nach 3 Tagen waren beinahe 1oo% der im Harn gemessenen Aktivität eliminiert. Der Verlauf der Aktivitätsausscheidung ist in Abbildung 16 festgehalten. Bereits während der ersten 2 Stunden nach der Instillation wurde die maximale ^{14}C-Aktivität erreicht. Insgesamt wurden 36,8% der applizierten ^{14}C-Aktivität über die Niere ausgeschieden.

Bei den gaschromatographischen Untersuchungen war nach 2 Stunden (bei $DMSO_2$ nach 6 - 8 Stunden) die maximale DMSO-Konzentration meßbar. Aus der ^{14}C-Aktivität errechneten sich: 362 mg "DMSO"/l Harn. Die gaschromatographischen Werte betrugen: 343 mg DMSO/l Harn und 31 mg $DMSO_2$/l Harn. Von der 1o. Stunde nach der Instillation bis zur 24. Stunde konnten nur noch Spuren von DMSO nachgewiesen werden. Die $DMSO_2$-Konzentration lag etwa 2 Tage über dem Basalpegel. Dieser betrug 12 mg DMSO/l Harn. Bei einer Tagesharnmenge von durchschnittlich 21 l wurden also 252 mg $DMSO_2$ in 24 Stunden ausgeschieden. Insgesamt waren bei der gaschromatographischen Untersuchung 37,2% der Dosis im Harn wieder auffindbar, und zwar 16,6% DMSO und 2o,6% $DMSO_2$.

Die Abbildungen 17 und 18 erlauben einen Vergleich zwischen der aus den Aktivitätsbestimmungen errechneten "DMSO"-Ausscheidung mit dem Harn und den gaschromatographisch

Abb. 16 : ^{14}C-Ausscheidung im Harn einer Kuh nach vorausgegangener intrazisternaler ^{14}C-DMSO-Applikation.
(160,7 µCi in 15 ml 60%igem DMSO)

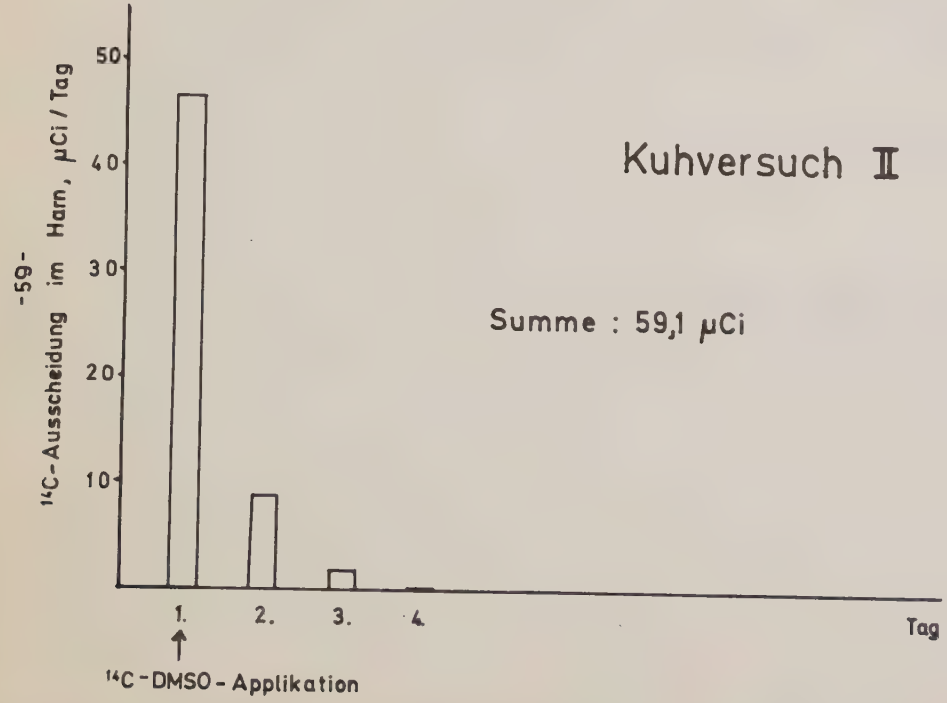


Abb. 17 : Aus der ^{14}C-Aktivität errechneter "DMSO"-Gehalt des Harns einer Kuh nach vorausgegangener intrazisternaler ^{14}C-DMSO-Applikation. (160,7 µCi in 15ml 60%igem DMSO)

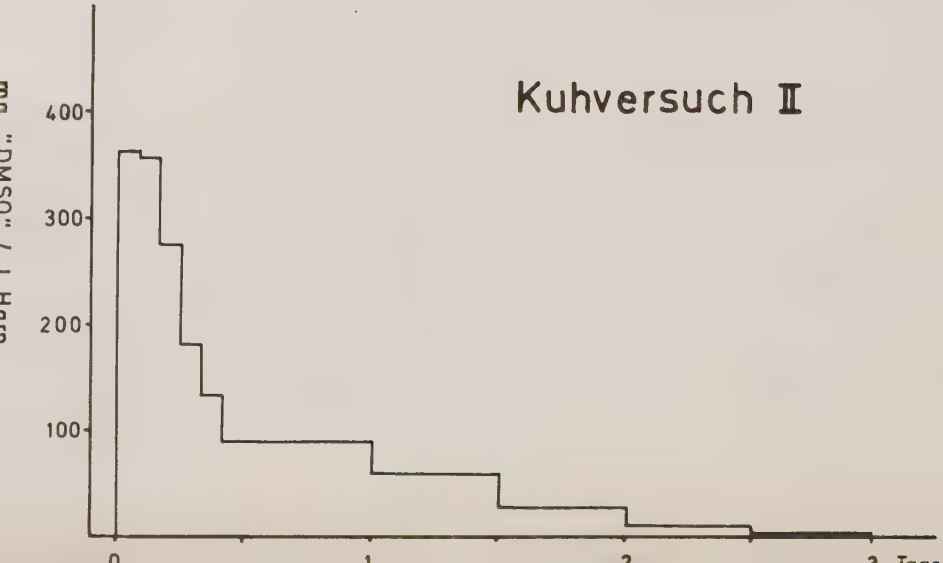
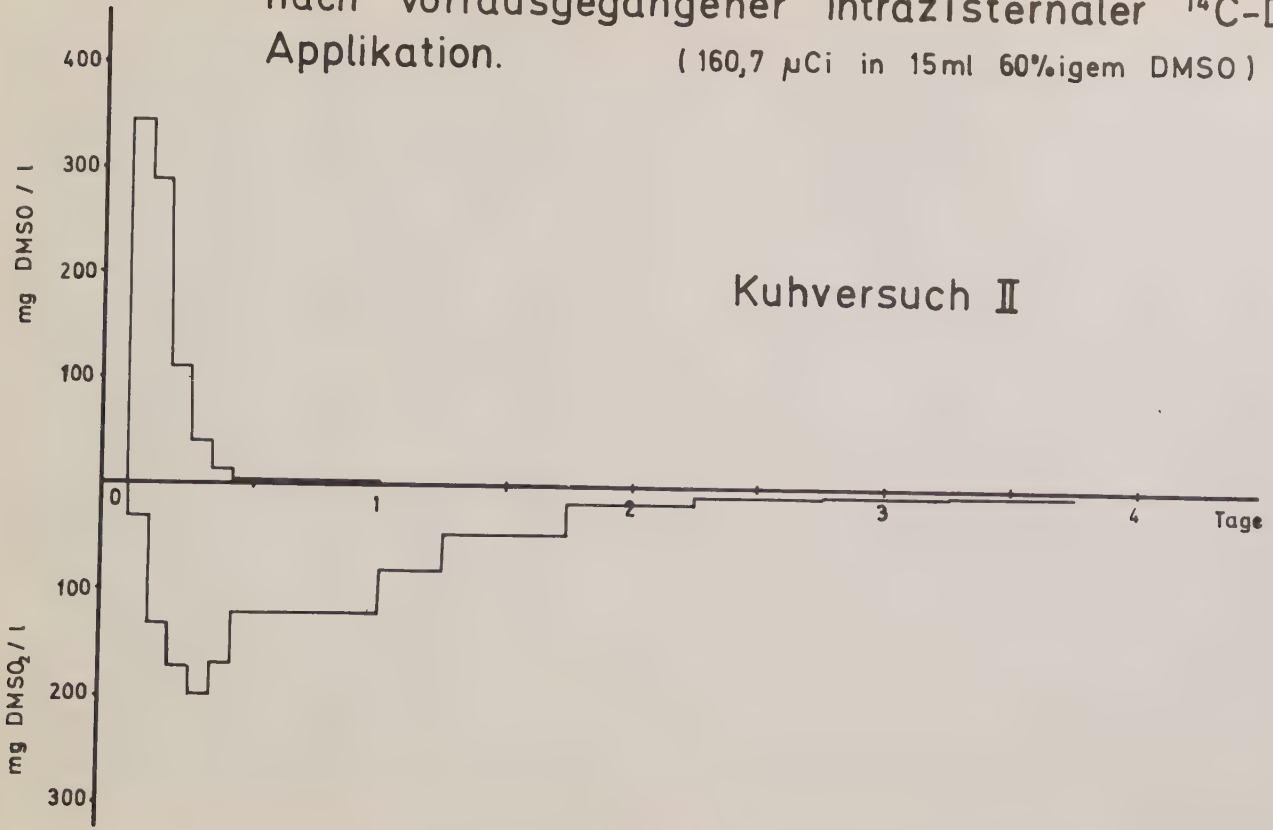


Abb. 18 : DMSO-und $DMSO_2$ -Gehalt des Harns einer Kuh nach vorrausgegangener intrazisternaler ^{14}C-DMSO-Applikation. (160,7 µCi in 15ml 60%igem DMSO)



im Harn bestimmten Metaboliten.
In den Milchproben aller Viertel stimmten die Aktivitätswerte 12 Stunden nach der Instillation weitgehend überein. Die Aktivität wurde in der Tabelle 2 der Anschaulichkeit wegen wiederum als "DMSO" aufgeführt.
Insgesamt wurden 2,o3% der ^{14}C-Aktivität mit der Milch ausgeschieden.

Tabelle 2:
Aus der ^{14}C-Aktivität errechnete "DMSO"-Konzentrationen der Milch (Kuhversuch II)

Zeit nach der ^{14}C-DMSO-Appl.		"DMSO"-Konzentration mg/l			
		vr.	vl.	hr.	hl.
12	Stunden	12,1	12,5	11,6	11,6
24	"	6,1	6,1	5,8	5,8
36	"	3,1	3,2	3,1	3,1
2	Tage	1,5	1,4	1,6	1,7
3	" S			o,5	
5	" S			o,3	

vr = vorne rechts (Euterviertel)
vl = vorne links
hr = hinten rechts
hl = hinten links
S = Sammelgemelk aus allen Eutervierteln

IV Diskussion

1. Ausscheidung der ^{14}C-Aktivität im Harn von Kälbern und Kühen nach Verabreichung von ^{14}C-DMSO:

KOLB (17) weist darauf hin, daß die Ausscheidung von DMSO über die Niere von der Applikationsart von DMSO und der Tierspezies abhängig ist.

In den vorliegenden Untersuchungen wurden zwei Kälber (Kalb I und II) cutan mit ^{14}C-DMSO behandelt, zwei weiteren Kälbern (Kalb III und IV) wurde ^{14}C-DMSO subcutan injiziert. Zwei Kühen (Kuh I und II) wurde ^{14}C-DMSO intrazisternal ins vordere rechte Euterviertel instilliert. Untersucht wurde jeweils die ^{14}C-Ausscheidung mit dem Harn. In den ersten 5 Tagen nach der ^{14}C-DMSO-Applikation wurden in den einzelnen Versuchen folgende Anteile der insgesamt über die Niere eliminierten ^{14}C-Aktivität im Harn ausgeschieden:

Kalb I 87%, Kalb II 8o%, Kalb III 97%, Kalb IV 92%;
Kuh I 96%, Kuh II annähernd 1oo%.

Es ergibt sich also der Eindruck, daß nach cutaner Applikation die Ausscheidung langsamer verläuft, als nach subcutaner Verabreichung von ^{14}C-DMSO. Auch KOLB (17) berichtet bei Hunden und Menschen über eine protrahierte Aktivitätsausscheidung nach cutaner Applikation von markiertem DMSO im Vergleich zu anderen Applikationsarten. Obgleich in unseren Versuchen bereits 5 Tage nach der ^{14}C-DMSO-Verabreichung ein hoher Prozentsatz der insgesamt mit dem Harn ausgeschiedenen Aktivität eliminiert war, wurde bei dem Kälberversuch III nach maximal 17 Tagen, bei den Kühen etwa bis zum zehnten Tag geringe ^{14}C-Aktivität im Harn nachgewiesen.
Mit Ausnahme des Kälberversuchs II wurde jeweils bereits am ersten Tag die maximale Aktivitätsausscheidung erreicht. Bei Kälberversuch II war dies zwischen dem zweiten und dritten Tag der Fall. Insgesamt wurden folgende Anteile der applizierten ^{14}C-Aktivität im Harn ausgeschieden:

Kalb I 11,2% [1]), Kalb II 57,7%, Kalb III 53,6%,
Kalb IV 15,2%;
Kuh I 44,6%, Kuh II 36,8%.

Die von anderen Autoren ermittelten Werte sind insofern nicht absolut vergleichbar, als oft die Gesamtausscheidungsdauer nicht abgewartet wurde, oder die in den vorliegenden Versuchen verwendeten Applikationsarten (subcutan und intramammär) selten oder gar nicht angewandt wurden.
Nach cutaner Applikation von radioaktiv markiertem DMSO fand KOLB (17) bei der Ratte im Harn 85% der Aktivität nach 48 Stunden wieder. Vom Kaninchen wurden in 1o Tagen bei der selben Applikationsart 9o% der Aktivität über die Niere eliminiert. Die entsprechenden Werte bei anderen Tierarten sehen folgendermaßen aus:

Hund in 14 Tagen 5o% (33), Pavian in 14 Tagen 5o%
(15), Mensch in 1o - 15 Tagen 5o% (17),
Mensch in 19 Tagen 3o,8% (3o).

Für die subcutane Applikationsart ermittelten WILLIAMS und Mitarbeiter (31) beim Kaninchen bis zum 12. Tag nach der Verabreichung 5o% der Gesamtdosis im ausgeschiedenen Harn.

Bei anderen Applikationsarten (z.B. oral, i.p.) liegen die Wiederauffindungsraten der Aktivität nach Verabreichung von markiertem DMSO im allgemeinen höher, erreichen aber kaum 1oo%. Lediglich beim Menschen fand KOLB (17) in 18 Tagen nach intravenöser Applikation von markiertem DMSO annähernd 1oo% der Dosis im Harn wieder. Obwohl die Wiederauffindungsrate in vielen Fällen auch bei Berücksichtigung der Ausscheidung über die Lunge und den Darm unter 1oo% lag, betonen die Autoren, daß Verluste der Substanz, z.B. durch Verflüchtigung, gering waren.

Ein Verlust bei der Applikation trat leider im Kälberversuch I bei unseren Untersuchungen auf.

[1]) Verluste bei der Applikation

Daraus dürfte sich zumindest teilweise der im Vergleich zu den Kälberversuchen II und III geringe Anteil der applizierten Dosis, der im Harn ausgeschieden wurde, erklären. Bei der verbesserten Methode der cutanen Verabreichung bei Kalb II (Aufkleben eines Gummitrichters), wie auch bei der subcutanen Injektion (Kalb III und IV) waren die Verluste bei der Verabreichung jedoch sehr gering. Die Wiederauffindungsraten bezüglich der ^{14}C-Ausscheidung über den Harn betrugen bei Kalb II 57,7% bzw. 53,6% der Dosis bei Kalb III.

Auffällig niedrig war die Wiederauffindungsrate der ^{14}C-Aktivität im Harn bei Kalb IV. In diesem Versuch wurden nämlich, wie bereits erwähnt, nur 15,2% der applizierten ^{14}C-Dosis im Harn wiedergefunden. Möglicherweise ist dieser vergleichsweise niedrige Wert auf die andersartigen Versuchsbedingungen zurückzuführen. Das ^{14}C-DMSO wurde in zwei Depots appliziert. Außerdem trug das Kalb IV eine Atemmaske. Dies hatte eine verstärkte Atmung zur Folge. Möglicherweise wird dadurch der Stoffwechsel und die Ausscheidung von DMSO beeinflußt.

2. Ausscheidung von DMSO und $DMSO_2$ im Harn von Kälbern und Kühen nach vorausgegangener ^{14}C-DMSO-Applikation:

Die DMSO-Ausscheidung im Harn dauerte im Kälberversuch III ca. 28 Stunden. Zwischen der 28. und 36. Stunde waren nur noch Spuren von DMSO nachweisbar. In den Kuhversuchen erfolgte die DMSO-Ausscheidung bis zur 12. Stunde nach der Verabreichung (bei Kuh II waren Spuren von DMSO bis zur 24. Stunde nachweisbar).

Die maximale DMSO-Konzentration im Harn wurde bei Kalb III nach 8 - 1o Stunden, bei Kuh I nach 2 - 4 Stunden und bei Kuh II nach 0 - 2 Stunden gemessen. Insgesamt gesehen, wird DMSO somit relativ rasch ausgeschieden. Ferner ist festzustellen, daß die Ausscheidung von DMSO im Harn bei den Kühen frühzeitiger beendet war als bei den Kälbern. Ob dies auf die unterschiedliche Applikationsart oder das unterschiedliche Alter der Versuchstiere zurückzuführen ist, bleibt offen.

Die Ausscheidung von $DMSO_2$, das aus DMSO hervorgeht, verlief langsamer. Die Maximalwerte für die $DMSO_2$-Konzen-

trationen des Harns wurden generell später erreicht (Kalb II 48 Stunden, Kalb III 4o Stunden, Kuh I 1o Stunden, Kuh II 8 Stunden) als die entsprechenden Werte der DMSO-Konzentrationen. Der kürzeste Zeitraum für die $DMSO_2$-Ausscheidung wurde bei Kuh II (2 - 3 Tage) gefunden.

Insgesamt wurden im Harn im Kälberversuch III nach DMSO-Verabreichung 39%, bei Kuh I 35,2% und bei Kuh II 37,2% der Gesamtdosis in Form von DMSO und $DMSO_2$ ausgeschieden. Die entsprechenden Werte für die Wiederauffindung der ^{14}C-Aktivität im Harn nach ^{14}C-DMSO-Verabreichung lauten:

Kalb III 53,6%, Kuh I 44,6%, Kuh II 36,8%.

Bezüglich der geringeren Wiederauffindungsrate bei den gaschromatographischen Untersuchungen im Kälberversuch III und Kuhversuch I im Vergleich zu den Radioaktivitätsmessungen sind folgende Punkte zu berücksichtigen:

Eventuell verändert die DMSO-Gabe den Basalpegel der endogenen $DMSO_2$-Ausscheidung. Geringe Mengen von $DMSO_2$ werden nämlich auch ohne Applikation von DMSO im Harn ausgeschieden. Auch HUCKER und Mitarbeiter (3o) ermittelten bei den Radioaktivitätsbestimmungen etwa 4% höhere Werte als bei den gaschromatographischen Untersuchungen. Schließlich ist bei den Radioaktivitätsmessungen der Frischharn untersucht worden, während für die gaschromatographischen Bestimmungen ein zweimaliges Auftauen des tiefgefrorenen Harns unvermeidbar war. Unter Umständen werden auch bisher unbekannte zusätzliche Metaboliten von DMSO im Harn ausgeschieden. Im Kuhversuch II stimmten die gaschromatographischen und radiometrischen Werte bezüglich der Ausscheidung über den Harn gut überein.
Aus den Ergebnissen läßt sich somit folgern, daß nach der Applikation von ^{14}C-DMSO der überwiegende Teil der im Harn von Kälbern und Kühen erscheinenden ^{14}C-Aktivität an DMSO und $DMSO_2$ gebunden ist.
Dabei scheint beim Kalb (29% DMSO, 1o% $DMSO_2$) der DMSO-Anteil, bei den Kühen dagegen der $DMSO_2$-Anteil (Kuh I 8,7% DMSO, 26,5% $DMSO_2$; Kuh II 16,6% DMSO, 2o,6% $DMSO_2$) zu überwiegen.

3. Die $DMSO_2$-Ausscheidung im Harn nach Methionin-Verabreichung:

Es wurde bereits in anderem Zusammenhang erwähnt, daß der Harn z.B. beim Menschen auch ohne vorhergehende DMSO-Applikation etwa 4 - 11 mg $DMSO_2$/Tagesharnvolumen enthält (26). Möglicherweise ist daher $DMSO_2$ ein normaler Metabolit des Schwefelstoffwechsels. Es interessierte daher, ob die Zufuhr einer größeren Menge einer schwefelhaltigen Aminosäure (Methionin) die $DMSO_2$-Ausscheidung im Harn erhöht. Die Verabreichung von 5o g DL-Methionin hatte dabei sowohl beim Milch-ernährten als auch bei dem mit Heu gefütterten Kalb eine deutliche Zunahme der $DMSO_2$-Konzentrationen des Harns zur Folge ("Milchkalb": maximale Konzentration: 47,5 mg/l; "Heukalb": maximale Konzentration: 79 mg/l). Offenbar ist somit $DMSO_2$ als Metabolit des Schwefelstoffwechsels anzusehen.

4. Ausscheidung von ^{14}C-Aktivität mit dem Kot nach ^{14}C-DMSO-Verabreichung:

Die ^{14}C-Ausscheidung im Kot nach ^{14}C-DMSO-Verabreichung war gering. Dies bestätigten verschiedene Autoren (17, 29) ebenfalls für andere Spezies. Die Wiederauffindungsraten der ^{14}C-Aktivität lagen in all unseren diesbezüglichen Versuchen (Kalb I, II und III) unter 1% der applizierten ^{14}C-DMSO-Dosis.
Zeitlich fällt die maximale Ausscheidung über den Darm etwa mit dem $DMSO_2$-Maximum im Harn zusammen. Möglicherweise ist die Aktivität daher hauptsächlich dem $DMSO_2$ zuzuordnen. Aufgrund der relativ langen Verweildauer des Kots im Darm könnte es sich dabei jedoch auch um DMSO handeln.

5. ^{14}C-Restaktivität in den Geweben nach ^{14}C-DMSO-Verabreichung:

In den Kälberversuchen I und III wurden Gewebeproben auf ^{14}C-Restaktivität untersucht.
17 Tage (Kalb I) bzw. 2o Tage (Kalb III) nach der ^{14}C-DMSO-Verabreichung war in der Mehrzahl der Organproben keine

Aktivität nachweisbar. Eine Ausnahme machte in Kälberversuch III das Gekrösefett und Subcutanfett. Für beide Proben wurde annähernd die doppelte Nullrate gemessen. Dies entspricht, auf DMSO umgerechnet, einem DMSO-Gehalt von ca. 4o ppm.

6. Ausscheidung von ^{14}C-Aktivität mit der Expirationsluft nach ^{14}C-DMSO-Verabreichung:

Bei einem Kalb (Kälberversuch IV) wurde nach der subcutanen Applikation von ^{14}C-DMSO die ^{14}C-Ausscheidung über die Expirationsluft quantitativ ermittelt. Dabei wurde etwa 2o Stunden lang ^{14}C-Aktivität mit der Ausatmungsluft abgegeben. Insgesamt erschienen 72,4% der verabreichten ^{14}C-Aktivität in der Expirationsluft.
Bei anderen Spezies wurden, wie Untersuchungen von HUCKER u.a. (29) zeigen, nach der Applikation von radioaktiv markiertem DMSO maximal 6% der zugeführten Dosis in der Expirationsluft wiedergefunden. Der Unterschied zu dem in Kälberversuch IV ermittelten Wert von 72,4% der Dosis ist somit beträchtlich.
Im Harn erschienen in diesem Versuch 15,2% der Dosis, so daß insgesamt 87,6% der zugeführten ^{14}C-Aktivität wiedergefunden wurden. Worauf der Fehlbetrag von 12,4% zurückzuführen ist, kann nicht eindeutig geklärt werden. Möglicherweise spielen dabei geringe Undichtigkeiten der verwendeten Atemmaske eine Rolle. Auch dürfte über die Faeces ein geringer Anteil der ^{14}C-Aktivität den Tierkörper verlassen haben (siehe oben). Letztlich ist bei vielen bisherigen Untersuchungen ein Fehlbetrag bei der quantitativen Wiederauffindung der applizierten Dosis festzustellen, für den von den Autoren keine befriedigende Erklärung angegeben wird. Im Kälberversuch III wurde ein Teil der Expirationsluft durch Isopentan, einem guten Lösungsmittel für DMS, sowie durch Natronlauge geleitet. Dabei konnte im Isopentan ^{14}C-Aktivität nachgewiesen werden, nicht jedoch in der als Absorptionsflüssigkeit für CO_2 dienenden Natronlauge. Auch im Kälberversuch IV war in der Natronlauge keine ^{14}C-Aktivität nachweisbar. Daher wird DMSO offenbar nicht oder nur zu einem sehr geringen Teil zu Kohlendioxyd umgewandelt.

Jedoch scheint zumindest ein Teil, der in der Expirationsluft auftauchenden ^{14}C-Aktivität an DMS gebunden zu sein. Dafür spricht auch der in allen Versuchen nach der Applikation von DMSO im Versuchstierraum wahrnehmbare, typische knoblauchartige DMS-Geruch.

7. Ausscheidung der ^{14}C-Aktivität mit der Milch nach intramammärer ^{14}C-DMSO-Verabreichung:

In einem Rattenversuch von KOLB (23) wurde sowohl nach cutaner, als auch nach oraler Applikation von markiertem DMSO mit der Milch nur o,4 - o,6% der Dosis ausgeschieden.

In unseren Versuchen wurde bei der Kuh II in der Milch 2,o3% der intrazisternal ins vordere rechte Euterviertel applizierten ^{14}C-Aktivität eliminiert. Im Kuhversuch I betrug der entsprechende Wert 6,86%. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß bei Kuh I mit den nach 2 bzw. 4 Stunden post applicationem gewonnenen Milchproben 3,9% der Gesamtdosis aus dem behandelten Viertel ausgemolken wurden. Hierbei dürfte es sich um nicht resorbiertes DMSO handeln, so daß sich der zunächst resorbierte und dann mit der Milch ausgeschiedene Anteil stark reduziert. Somit wurden von Kuh I wahrscheinlich nur etwa 3% der Dosis tatsächlich mit der Milch eliminiert. 6 Stunden nach der Applikation waren die Aktivitätswerte aller Viertelproben bereits auf gleichem Niveau. Bei der Kuh II war dies zum Zeitpunkt der ersten Probeentnahme (12 Stunden) der Fall. 48 Stunden nach der ^{14}C-DMSO-Verabreichung enthielten die Milchproben von Kuh I ca. 6 mg "DMSO"/l Milch, von Kuh II 1,5 mg "DMSO"/l Milch. In Analogie zu den Ausscheidungsverhältnissen im Harn dürfte mit großer Wahrscheinlichkeit 24 - 48 Stunden nach der Applikation jedoch nur $DMSO_2$, das auch ohne DMSO-Verabreichung in der Milch in Konzentrationen von ca. 6 - 8 mg/l (24) ausgeschieden wird, erscheinen.

V Zusammenfassung

An insgesamt 4 Kälbern und 2 Kühen wurde das Ausscheidungs- und Stoffwechselverhalten von Dimethylsulfoxid untersucht. Für die Untersuchungen wurde ^{14}C-markiertes Dimethylsulfoxid verwendet, das entweder cutan (2 Kälber), subcutan (2 Kälber) oder intramammär (2 Kühe) appliziert wurde. Der über den Harn ausgeschiedene Anteil der applizierten ^{14}C-Aktivität lag bei den einzelnen Versuchen zwischen 11,25 und 57,75%. Innerhalb von 5 Tagen nach der ^{14}C-DMSO-Applikation wurden in allen Versuchen 8o - 1oo% der insgesamt im Harn erscheinenden ^{14}C-Aktivität über den Harn eliminiert. Die gaschromatographisch untersuchte DMSO-Ausscheidung über den Harn war bei einem Kalb 28 Stunden nach der ^{14}C-DMSO-Applikation im wesentlichen abgeschlossen (Kälberversuch III), bei den Kühen (Kuhversuch I und II) war das bereits nach ca. 12 Stunden der Fall. Danach konnte im Harn nur noch $DMSO_2$ nachgewiesen werden. Da die Summe aus DMSO- und $DMSO_2$-Ausscheidung zum Teil (Kälberversuch III, Kuhversuch I) nicht unerheblich unter dem aufgrund der ausgeschiedenen ^{14}C-Aktivität zu erwartendem Wert lag, kann das Auftreten weiterer Metaboliten des DMSO-Stoffwechsels nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

Die im Kot nachweisbare ^{14}C-Aktivität lag bei den Kälbern unter 1% der applizierten ^{14}C-Aktivität. Bei den Kühen wurde die ^{14}C-Aktivität des Kotes nicht bestimmt.

Zur Erfassung etwaiger Restaktivitäten im Gewebe wurden 2 Kälber (Kälberversuch I, III) unmittelbar nach Beendigung des Versuchs geschlachtet. Dabei konnten bei einem Kalb (Kälberversuch III) Spuren von ^{14}C-Aktivität im Subcutan- und Gekrösefett nachgewiesen werden.

Bei den Kühen wurde ein relativ geringer Anteil der intramammär applizierten ^{14}C-Aktivität über die Milch abgegeben (Kuh I: 6,86%, Kuh II: 2,o3%). Der höhere Wert bei Kuh I beruht vermutlich darauf, daß ein Teil des in das rechte vordere Euterviertel instillierten ^{14}C-DMSO zwei und vier

Stunden nach der Applikation mitausgemolken wurde, ohne resorbiert worden zu sein. Kuh II wurde dagegen erst 12 Stunden nach der ^{14}C-DMSO-Applikation zum ersten Mal gemolken. Fünf Tage nach der ^{14}C-DMSO-Applikation betrug die auf das unveränderte DMSO-Molekül umgerechnete ^{14}C-Aktivität ca. 1 mg (Kuh I) bzw. o,3 mg (Kuh II) "DMSO" pro Liter Milch.

Bei einem Kalb (Kälberversuch IV) wurde nach subcutaner ^{14}C-DMSO-Applikation die ^{14}C-Ausscheidung über Harn und Atemluft gemessen. Dabei wurden 87,6% der applizierten ^{14}C-Aktivität über Harn (15,2%) und Expirationsluft (72,4%) eliminiert.

Damit wird nach Applikation von ^{14}C-DMSO beim Kalb und wahrscheinlich auch bei der Kuh ein erheblicher Anteil an ^{14}C-Aktivität über die Expirationsluft abgegeben.

Zwei Kälbern wurde Methionin verabreicht, um die eventuelle Beeinflussung des endogenen $DMSO_2$, das im Harn als normaler Harnbestandteil ausgeschieden wird, zu beobachten. Ein deutlicher Anstieg der $DMSO_2$-Ausscheidung bei Kalb II und V nach Verabreichung von DL-Methionin war feststellbar.

Summary

Studies on the elimination and metabolism of dimethyl sulfoxide were carried out in 4 calves and 2 cows.
For the experiments ^{14}C-labeled dimethyl sulfoxide was administered either cutaneously (2 calves), subcutaneously (2 calves) or intramammarily (2 cows).
In these experiments 11,25 - 57,75% of the ^{14}C-activity administered was excreted via urine. Within 5 days after the administration of ^{14}C-DMSO 8o - 1oo% of the total ^{14}C-activity appearing in the urine was eliminated in the urine. DMSO excretion in the urine which was examined by means of gas chromatography was terminated in one calf (calf III) about 28 hours after the application of ^{14}C-DMSO. In the cows DMSO excretion was completed within 12 hours. Thereupon exclusively $DMSO_2$ was found in the urine. Since the sum of DMSO and $DMSO_2$ excretion in part (calf experiment III, cow experiment I) was considerably lower than excretion of ^{14}C-activity the urine possibly contained further metabolites of DMSO.

Less than 1% of the ^{14}C-dose administered was recovered in the feces of the calves. In the cows ^{14}C-activity of the feces was not determined.
In order to detect possible residues of the ^{14}C-activity in the tissue two calves (calf experiment I, III) were sacrificed at the end of the experiments. Only in one calf (calf experiment III) traces of ^{14}C-activity could be registered in the subcutaneous and omental fat.

In both cows relatively small percentages of the ^{14}C-activity applied intramammarily were detected in the milk (cow I: 6,86%, cow II: 2,o3%). The higher value obtained for cow I might be attributed to the fact that part of the ^{14}C-activity instilled in the right front quarter of the udder was milked out 2 and 4 hours after the administration of ^{14}C-DMSO without being absorbed before.

Cow II was milked for the first time by 12 hours after the application of ^{14}C-DMSO. Five days after the administration of ^{14}C-DMSO the "DMSO" content of the milk calculated from the ^{14}C-activity was about 1 mg (cow I) and o,3 mg (cow II), respectively. In one calf (calf experiment IV) after subcutaneous application of ^{14}C-DMSO elimination of ^{14}C-activity via kidney and lung was determined. 87,6% of the ^{14}C-activity administered was eliminated in the urine (15,2%) and exspired air (72,4%).

Hence the calf and probably also the cow exhale a considerable amount of ^{14}C-activity after preceding application of ^{14}C-DMSO.

Two calves were fed with methionine. The possible effect on the physiological excretion of dimethyl sulfone in the urine was examined. The $DMSO_2$ excretion in calf II and calf V was considerably elevated after administration of methionine.

VI Literaturverzeichnis

1. KEIL H.L.:	Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 131-138 (1967)
2. RAMIREZ E., LUZA S.:	Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 655-667 (1967)
3. FRANZ T.J., VAN BRUGGEN J.T.:	Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 302-309 (1967)
4. SULZBERGER M.B., CORTESE T.A., FISHMAN L., WILEY H.S., PEYAKOVICH P.S.:	Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 437-450 (1967)
5. WOOD D.C., SWEET D., VAN DOLAH J., CONTAXIS J., SMITH II J.C.:	Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 346-380 (1967)
6. ALTLAND P.D. et al: zitiert nach: GERHARDS E. und GIBIAN H.:	Life Sci. 5, 375 (1966) Die Naturwissenschaften 55, 435-438 (1968)
7. ASHWOOD-SMITH M.J.:	Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 45-62 (1967)
8. GRIES G., BUBLITZ G., FREYTAG G., LINDNER J.:	"DMSO-Symposium 1966 Wien" Verl. Saladruck Berlin p. 26-32
9. HAEUSLER G., JAHN U.:	Arch. Int. Pharmacodyn. 159, 386-400 (1966)
10. NARULA P.N.:	Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 277-278 (1967)
11. RAMMLER D.H.:	Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 291-299 (1967)
12. MONDER C.:	Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 300-301 (1967)
13. SEIBERT F.B., KARRELLY F.K., SHEPHERD C.C.:	Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 198 (1967)
14. RITSCHEL W.A.:	Angew. Chem. 81, 757-796 (1969)
15. KOLB K.H., JÄNICKE G.:	"DMSO-Symposium 1966 Wien" Verl. Saladruck Berlin p. 9-13
16. GERHARDS E., GIBIAN H.:	"DMSO-Symposium 1966 Wien" Verl. Saladruck Berlin p. 13-17
17. KOLB K.H.:	"DMSO-Symposium 1965 Dolicur" Verl. Saladruck Berlin p. 13-18
18. KALBERER F., RUTSCHMANN J.:	Helv. Chim. Acta VLIV 1956 (1961)
19. DENKO C.W., GOODMAN R.M., MILLER R., DONOVAN T.:	Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 77-84

20. GERHARDS E., GIBIAN H., RASPE G.: Arzneim.-Forsch. 15, 1295-1297 (1965)

21. PFIFFNER J.J., NORTH H.B.: J. Biol. Chem. 134, 781-782 (1940)

22. KEENAN T.W., LINDSAY R.C.: J. Dairy Sci. 50, 950 (1967)

23. KOLB K.H.: "DMSO-Symposium 1966 Wien" Verl. Saladruck Berlin p. 77

24. WILLIAMS K.I.H., BURSTEIN S.H., LAYNE D.S.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 122, 865 (1966)

25. RUZICKA L., GOLDBERG M.W., MEISTER H.: Helv. Chim. Acta 23, 559 (1940)

26. WILLIAMS K.I.H., BURSTEIN S.H., LAYNE D.S.: Arch. Biochem. Biophys. 113, 251 (1966)

27. HUCKER H.B., AHMAD P.M., MILLER E.A.: Fed. Proc. 24, 546 (1965)

28. BORGSTEDT H.H., DI STEFANO V.: Toxicol. appl. Pharmacol. 10, 523-528 (1967)

29. HUCKER H.B., AHMAD P.M., MILLER E.A.: J. Pharm. exp. Ther. 154, 176-184 (1966)

30. HUCKER H.B., MILLER J.K., HOCHBERG A., BROBYN R.D., RIORDAN F.H., CALESNICK B.: J. Pharm. exp. Ther. 155, 309-317 (1966)

31. WILLIAMS K.I.H., BURSTEIN S.H., LAYNE D.S.: Arch. Biochem. Biophys. 117, 84-87 (1966)

32. GERHARDS E., GIBIAN H.: Die Naturwissenschaften 55, 435-438 (1968)

33. KOLB K.H., JÄNICKE G., KRAMER M., SCHULZE P.E., RASPE G.: Arzneim.-Forsch. 15, 1292-1295 (1965)

34. HUCKER H.B., AHMAD P.M., MILLER E.A., BROBYN R.: Nature 209, 619-620 (1966)

35. DI STEFANO V., BORGSTEDT H.H.: Science 144, 1137 (1964)

36. KAISER R.: "Chromatographie in der Gasphase IV" Hochschultaschenbücherverl. Mannheim (1965) p. 42

37. LEAKE C.D.: Science 152, 1646-1649 (1966)

38. MC DERMOT H.L., ZANETTE B., FINKBEINER A.J.: Canad. J. Physiol. Pharmacol. 45, 475-478 (1967)

39. LEAKE C.D.: "DMSO-Symposium 1966 Wien" Verl. Saladruck Berlin p. 1-5

40. MC GREGOR W.S.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 3-12 (1967)

41. JACOB S.W.: "DMSO-Symposium 1965 Dolicur" Verl. Saladruck Berlin p. 1-1o (1965)

42. RAMMLER D.H., ZAFFARONI A.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 13-23 (1967).

43. WALSER K.: Berl. Münchn. Tierärztl. Woschr. 79, 241-243 (1966)

44. KIRSCHMER H.: med. vet. Diss. Univ. München (1968)

45. ENGELHARDT-HOFMANN E.: med. vet. Diss. Univ. München (1971)

46. ZIV G.: Refuah Veterinarith 24, 244-235 (1967)

47. ZIV G., EGYED M.: Curr. Ther. Res. 11, 528-532 (1969)

48. ZIV-SILBERMANN G.: The Veterinary Record 81, 527 (1967)

49. POTTZ G.E., RAMPEY J.H., BENJAMIN F.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 261-272 (1967)

5o. FORMANEK K., SUCKERT R.: "DMSO-Symposium 1966 Wien" Verl. Saladruck Berlin p. 21-24

51. KITZMILLER K.W.: "DMSO-Symposium 1966 Wien" Verl. Saladruck Berlin p. 155-158

52. LAX E., SYNOWIETZ C.: "Taschenbuch f. Chemiker und Physiker" Verl. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1964)

53. SAMS W.M.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 242-247 (1967)

54. KRAMER M.: "DMSO-Symposium 1966 Wien" Verl. Saladruck Berlin p. 6-9

55. SINGH V.K., FIREOVED R.T.: Biotox. Res. Ass., Division of Acres, Experimentalbericht (1964)

zitiert nach:

KIRSCHMER H.: med. vet. Diss. Univ. München (1968)

56. STEINBERG A.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 549 (1967)

57. TEIGLAND M.B., SAURINO V.R.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 471-477 (1967)

58. DAKE C.D.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 484-489 (1967)

59. GERHARDS E., GIBIAN H.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 65-76 (1967)

60. KOLB K.H., JAENICKE G., KRAMER M., SCHULZE P.E.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 85-95 (1967)

61. FROMMHOLD W., BUBLITZ G., GRIES G.: "DMSO-Symposium 1966 Wien" Verl. Saladruck Berlin p. 160-164

62. SCHERBEL A.L.: "DMSO-Symposium 1966 Wien" Verl. Saladruck Berlin p. 165-174

63. GÜNZEL P., RICHTER K.-D.: "DMSO-Symposium 1965 Dolicur" Verl. Saladruck Berlin p. 23

64. KUTSCHERA E.: "DMSO-Symposium 1966 Wien" Verl. Saladruck Berlin p. 177-179

65. HOFFMANN D., MEYER-ROHN J.: "DMSO-Symposium 1966 Wien" Verl. Saladruck Berlin p. 176

66. KLEBERGER E.: "DMSO-Symposium 1966 Wien" Verl. Saladruck Berlin p. 56

67. WOOD D.C., WIRTH N.V.: "DMSO-Symposium 1966 Wien" Verl. Saladruck Berlin p. 58-67

68. CAUJOLLE F.M.E., CAUJOLLE D.H., CROS S.B., CALVET M.M.J.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 110-125 (1967)

69. RUBIN L.F., BARNETT K.C.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 333-345 (1967)

70. MAW G.A.: Biochem. J. 55, 42 (1953)

71. SOMMER S., TAUBERGER G.: Arzneim.-Forsch. 14, 1050 (1964)

72. MAZEL P., HENDERSON J.F., AXELROD J.: J. Pharm. exp. Ther. 143, 1 (1964)

73. WESTENFELDER C., LORENTZ K.: Arzneim.-Forsch. 20, 273-274 (1970)

74. BLOOM P.M., NELP W.B.: J. Lab. Clin. Med. 65, 1030 (1965)

Nach Beendigung dieser Arbeit möchte ich mich bei Herrn Professor Dr. Dr. T i e w s für die Überlassung des interessanten Themas, sowie für die großzügig zur Verfügung gestellten Arbeitsmöglichkeiten bedanken.

Herrn Privatdozent Dr. S c h a r r e r danke ich für die jederzeit gewährte Unterstützung und Beratung, die er mir bei der Arbeit angedeihen ließ.

Mein Dank gilt weiterhin Herrn Diplom-Chemiker Dr. F l ö g e l für die Unterstützung bei den ersten Versuchen, wie auch bei der Erarbeitung der gaschromatographischen Untersuchungsmethoden.

Lebenslauf

Am 1o. September 1944 wurde ich, Norbert Harre, als Sohn des Berufssoldaten Heins Harre und dessen Ehefrau Margot, geb. Händel, in Bad Homburg v.d.H. geboren.

Von 1951 bis 1955 besuchte ich die Volksschule in Bad Homburg v.d.H. und trat dann in das Kaiserin-Friedrich-Gymnasium ein. Von 1956 an besuchte ich in München die Gisela-Oberrealschule. Im Juli 1964 bestand ich an dieser Schule die Reifeprüfung.

Meinen Wehrdienst absolvierte ich von 1964 bis 1966.

Im November 1966 begann ich mein Studium der Tiermedizin an der Universität München. Hier schloß ich im September 1971 mein Studium mit dem Staatsexamen ab.